



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

THAYNÁ DA CRUZ FERREIRA

**MICROORGANISMOS COMO POTENCIAIS AGENTES PROMOTORES DO
CRESCIMENTO EM PLANTAS DE JAMBU (*Acmella oleracea* (L.) R. K.
Jansen)**

BELÉM-PA

2023

THAYNÁ DA CRUZ FERREIRA

**MICROORGANISMOS COMO POTENCIAIS AGENTES PROMOTORES DO
CRESCIMENTO EM PLANTAS DE JAMBU (*Acmella oleracea* (L.) R. K.
Jansen)**

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, para
obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Telma Fátima Vieira Batista
Co-orientador: Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro

BELÉM-PA

2023

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

F383m Ferreira, Thayná da Cruz Ferreira
MICROORGANISMOS COMO POTENCIAIS AGENTES PROMOTORES DO CRESCIMENTO
EM PLANTAS DE JAMBU (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen) / Thayná da Cruz Ferreira Ferreira. -
2023.
69 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Agronomia (PPGA), Campus Universitário
de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2023.

Orientador: Profa. Dra. Telma Fátima Vieira Batista
Coorientador: Profa. Dra. Gledson Luiz Salgado de Castro.

1. Microrganismos. 2. Promotores de Crescimento. 3. *Acmella oleracea*. 4. Sustentável. 5. Produção.
I. Batista, Telma Fátima Vieira Batista. *orient.* II. Título

CDD 630.275

THAYNÁ DA CRUZ FERREIRA

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, para obtenção do título de Mestre.

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

Co-orientador: Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro

Defesa: 26/05/2023

ORIENTADORA:

Documento assinado digitalmente
 TELMA FATIMA VIEIRA BATISTA
Data: 26/05/2023 19:41:25-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

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

EXAMINADORES:

Documento assinado digitalmente
 DENISE CASTRO LUSTOSA
Data: 28/05/2023 10:46:34-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof.^a Dra. Denise Castro Lustosa- 1º Examinador
Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA

Documento assinado digitalmente
 ITALO MARLONE GOMES SAMPAIO
Data: 06/06/2023 21:09:50-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. Italo Malorne Gomes Sampaio - 2º Examinador
Secretaria de Estado de Desenvolvimento Agropecuário da Pesca - SEDAP



Dr. Sérgio Antônio Lopes de Gusmão- 3º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

BELÉM/PA

2023

Dedico a Deus
Aos meus pais Ormindá e José Maria
À minha filha Valentina Ferreira, meu amor
Ao meu namorado Madion Tavares
À toda minha família e amigos, que foram essenciais na minha jornada.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, pela minha saúde, força e fé.

A minha eterna gratidão aos meus pais Ormindia Ferreira e Jose Maria Ferreira, pelo amor, criação, dedicação e rede de apoio, que me fizeram chegar até aqui.

A minha filha Valentina Ferreira, que me dá forças todos os dias para alcançar meus objetivos

Ao meu namorado Madion Tavares que sempre me apoiou quando mais precisei, obrigada pelo amor, apoio e reciprocidade.

A minha orientadora professora Dr. Telma Fátima Vieira Batista pela orientação neste trabalho, paciência, disponibilidade e apoio em todos os momentos.

Ao meu Coorientador professor Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro, pelas orientações no trabalho.

Ao CNPq, pelo financiamento do projeto e concessão da bolsa de estudo.

Aos meus amigos do grupo de pesquisa Gleiciane Rodrigues, Alessandra Moraes, Daniele Mendonça, Fernando Souza, Matheus Freitas, Diego Souza e Juliete Oliveira. Obrigada por me ajudarem nessa caminhada. Sem vocês, seria tudo mais difícil. Agradeço os ensinamentos e companheiros diários, ajuda nas minhas análises, nas minhas dúvidas e nas disciplinas. Muito obrigada pela força!

Por fim, a todos que contribuíram para a realização desse trabalho, mesmo que indiretamente.

MUITO OBRIGADA!!

RESUMO GERAL

O jambu, *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen, é uma hortaliça de grande importância econômica na região norte do Brasil. Entretanto, para o seu crescimento e produtividade são utilizadas várias aplicações químicas, como fertilizantes, inseticidas entre outros, que podem ser substituídas, atualmente, por vários produtos de base biológica, como os microrganismos que estimulam a produção vegetal. Objetivou-se avaliar fungos entomopatogênicos e agentes de biocontrole de doenças em plantas, na promoção de crescimento de plantas de jambu, por meio de parâmetros biométricos, fisiológicos e bioquímicos. Os bioensaios foram conduzidos em área comercial de agricultura periurbana, em canteiros suspensos protegido e não protegido, nos períodos chuvoso e seco. Foram utilizados três inoculantes biológicos: os fungos: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e o mix de *Trichoderma asperellum* (Isolados UFRA T06, UFRA T09, UFRA T12, UFRA T52), e o controle com aplicação somente de água. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com xxx repetições. Foram avaliados biomassa, trocas gasosas, clorofila, carboidratos e caracterização dos isolados quanto a solubilização de fosfato e produção de AIA. No período chuvoso, de acordo com a interação os parâmetros de crescimento foram significativos, onde o sistema protegido apresentou incremento na maioria das variáveis avaliadas, em relação ao não protegido. Os melhores resultados foram demonstrados por *M. anisopliae* e *T. asperellum*, em relação ao tratamento controle. No período seco, houve diferença significativa para todas as variáveis ($p < 0,05$). Os isolados fúngicos foram capazes de incrementar os níveis de clorofila *a* e *b*, sacarose das plantas, solubilizar fosfato e produzir AIA. Conclui-se que, nas condições avaliadas, o melhor sistema de plantio para a cultura do jambu é o cultivo protegido, tanto no período seco como no chuvoso. Os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* promovem o crescimento em plantas de jambu, por meio de incrementos na biomassa, trocas gasosas, clorofila *a* e *b* e sacarose, principalmente no período chuvoso. Quanto a caracterização dos isolados fúngicos, estes são solubilizadores de fosfato e produtores de AIA.

PALAVRAS-CHAVE: Cultivo protegido; trocas gasosas; microrganismos; carboidratos; produção; solubilização de fosfato; AIA.

ABSTRACT

Jambu, *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen is a vegetable of great economic importance in the northern region of Brazil. However, for its growth and productivity, various chemical applications are used, such as fertilizers, and insecticides, among others, which can currently be replaced by various biologically-based products, such as microorganisms that stimulate plant production. The aim was to evaluate entomopathogenic fungi and plant disease biocontrol agents in promoting the growth of jambu plants, using biometric, physiological, and biochemical parameters. The bioassays were conducted in a commercial area of peri-urban agriculture, in protected and unprotected hanging beds, during the rainy and dry periods. Three biological inoculants were used: the fungi: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and the *Trichoderma asperellum* mix (Isolates UFRA T06, UFRA T09, UFRA T12, UFRA T52), and the control with the application of water only. The experimental design was randomized blocks, with xxx replications. Biomass, gas exchange, chlorophyll, carbohydrates, and characterization of the isolates in terms of phosphate solubilization and AIA production were assessed. In the rainy season, according to the interaction, the growth parameters were significant, with the protected system showing an increase in most of the variables evaluated compared to the unprotected system. The best results were shown by *M. anisopliae* and *T. asperellum*, compared to the control treatment. In the dry period, there was a significant difference for all the variables ($p < 0.05$). The fungal isolates were able to increase the levels of chlorophyll a and b, sucrose in the plants, solubilize phosphate and produce AIA. It can be concluded that, under the conditions evaluated, the best planting system for jambu is protected cultivation, both during the dry and rainy seasons. The fungi *M. anisopliae* and *B. bassiana* promote growth in jambu plants, through increases in biomass, gas exchange, chlorophyll a and b, and sucrose, especially in the rainy season. As for the characterization of the fungal isolates, they are phosphate solubilizers and AIA producers.

KEYWORDS: Protected cultivation; gas exchange; microorganisms; carbohydrates; production; phosphate solubilization; AIA

LISTA DE ABREVIATURAS

AL Altura de plantas

DC Diâmetro do coleto

A Assimilação líquida de CO₂

C_i Concentração intercelular de CO₂

E Taxa de transpiração

g_s Condutância estomática ao vapor de água

A/C_i Eficiência instantânea de carboxilação

AIA- IAA Ácido indol-acético

FE Fungos entomopatogênicos

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Localização geográfica da área de estudo, pertencente a Associação dos Produtores e Hortifrutigranjeiros da Gleba do Guajará – APHA, localizada em área Urbana e Peri urbana do município de Ananindeua, Pará, Brasil.....19
- Figura 2. Colônias de fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento utilizados como promotores de crescimento de plantas de *Acmella oleracea*. a) *Trichoderma asperellum* b) *Metarhizium anisopliae* c) *Beauveria Bassiana*. Fonte: Autor, 2022.....20
- Figura 3. Valores médios de umidade relativa e temperaturas mínimas, médias e máximas mensuradas durante a condução do experimento, no período chuvoso amazônico, em março/2021. Município de Ananindeua, Pará, Brasil.....23
- Figura 4. Médias de precipitação diária mensuradas durante a condução do experimento no período chuvoso amazônico, em março/2021. Município de Ananindeua, Pará, Brasil.....24
- Figura 5. Altura (cm), diâmetro do coleto (mm), índice de clorofila (%), índice de robustez e massa seca e fresca da parte área (g), de plantas de *Acmella oleracea*, após aplicação fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento, em sistema protegido e não protegido, no período chuvoso amazônico, no município de Ananindeua, Pará, Brasil.....25
- Figura 6. Plantas de *Acmella oleracea*, após aplicação de fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento, em sistemas de plantio protegido, no período chuvoso. a) Controle, b) *Trichoderma asprellum*, c) *Beauveria bassiana*, d) *Metarhizium anisopliae*.....26
- Figura 7. (a) Trocas gasosas: fotossíntese líquida ($A-\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (b) Condutância estomática ($g_s-\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (c) Concentração interna de CO_2 ($C_i-\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) e (d) Eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i), após aplicação de fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento em plantas de *Acmella oleracea*, em sistema protegido e não protegido, no período chuvoso amazônico, no município de Ananindeua, Pará, Brasil.....27
- Figura 8. Plantas de *Acmella Oleracea*, após aplicação de fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento em sistema de plantio não protegido, no período chuvoso. a) Controle, b) *Trichoderma asperellum*, c) *Beauveria bassiana*., d) *Metarhizium anisopliae*.....28
- Figura 9. Valores médios de umidade relativa e temperaturas mínimas, médias e máximas mensuradas durante a condução do experimento, no período seco amazônico, em setembro/2021. Município de Ananindeua, Pará, Brasil.....29
- Figura 10. Médias de precipitação diária mensuradas durante a condução do experimento, no período seco amazônico, em setembro/2021. Município de Ananindeua, Pará, Brasil.....29
- Figura 11. Altura (cm), diâmetro do coleto (mm), índice de clorofila (%), índice de robustez e massa seca e fresca da parte área (g) de *Acmella oleracea*, após aplicação fungos

entomopatogênicos e promotor de crescimento, em sistema protegido e não protegido, no período seco amazônico, município de Ananindeua, Pará, Brasil.....31

Figura 12. Plantas de *Acmella Oleracea*, inoculadas com microrganismos entomopatogênicos e promotor de crescimento em sistema de plantio protegido no período seco. a) Controle, b) *Trichoderma asperellum*, c) *Beauveria bassiana* e d) *Metarhizium anisopliae*.....32

Figura 13. (a) Trocas gasosas: fotossíntese líquida ($A-\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (b) condutância estomática ($g_s-\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (c) concentração interna de CO_2 ($C_i-\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) e (d) eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i), após aplicação de fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento, em plantas de *Acmella oleracea*, em sistema protegido e não protegido, no período seco amazônico, no município de Ananindeua, Pará, Brasil.....33

Figura 14. Plantas de *Acmella oleracea*, após aplicação de fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento em sistema de plantio não protegido no período seco amazônico. a) Controle, b) *Trichoderma asperellum*, c) *Beauveria bassiana*, d) *Metarhizium anisopliae*.....34

Figura 15. Colônias de fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento utilizados na promoção de crescimento de plantas de *Acmella oleracea*. a) *Trichoderma asperellum* b) *Metarhizium anisopliae* c) *Beauveria Bassiana*. Fonte: Autor, 2022.....49

Figura 16. Valores de umidade relativa e temperaturas mínimas, médias e máximas, mensuradas durante 25 dias de condução do experimento em campo com plantas de *Acmella oleracea*, no município de Ananindeua, Pará, Brasil.....55

Figura 17. Médias de precipitação diária mensuradas durante 25 dias de condução do experimento em campo com plantas de *Acmella oleracea*, no município de Ananindeua, Pará, Brasil.....55

Figura 18. (a) Teores totais de clorofila *a* + clorofila *b*, (b) clorofila *a*, (c) clorofila *b* e (d) razão entre *Chla* e *Chlb* de plantas de *Acmella oleracea*, inoculadas com fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento, em sistema de cultivo protegido.....56

Figura 19. Concentrações foliares de sacarose [a]; frutose [b]; glicose [c]; amido [d], em plantas de *Acmella oleracea*, inoculadas com fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento, em sistema de cultivo protegido.....57

Figura 20. Solubilização de fosfato de cálcio (10 g.L^{-1}) em meio NBRIP (modificado) por isolados de *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma asperellum* e *Beauveria bassiana*, em diferentes intervalos de tempo (dias)..... 58

Figura 21. Produção de AIA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) por isolados de *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma asperellum* e *Beauveria bassiana* em meio FAN na presença de L-triptofano¹ em condições *in vitro*.....58

SUMÁRIO

CONTEXTUALIZAÇÃO	9
REFERÊNCIAS	11
AÇÃO DE MICRORGANISMOS COMO PROMOTORES DO CRESCIMENTO EM DE PLANTAS DE <i>Acmella oleracea</i> L. SUBMETIDAS A DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO	15
RESUMO	15
ABSTRACT	16
INTRODUÇÃO	17
2. MATERIAL E MÉTODOS	18
3. RESULTADOS	23
Seleção de microrganismos entomopatogênicos como promotores de crescimento de Jambu sistema de plantio protegido e não protegido no período chuvoso	23
Seleção de entomopatogênicos como promotores de crescimento de Jambu em sistemas de plantio protegido e não protegido no período seco	28
4.DISSCUSSÃO	34
5. CONCLUSÕES	38
6. REFERÊNCIAS	39
POTENCIAL DE MICRORGANISMOS COMO SOLUBILIZADORES DE FOSFATO, PRODUÇÃO DE AIA, CLOROFILA E CARBOIDRATOS EM PLANTAS DE <i>Acmella oleraceae</i>	45
RESUMO	45
ABSTRACT	46
INTRODUÇÃO	47
MATERIAL E MÉTODOS	49
RESULTADOS	54
DISCUSSÃO	59
CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

2 O jambu, *Acmella oleracea* (L) R.K. Jansen, é uma hortaliça herbácea que pertence à
3 família Asteraceae, nativa da região Amazônica (SAMPAIO et al., 2020), apresenta valor
4 econômico devido ser bastante cultivada e consumida na região Norte do Brasil, principalmente
5 no estado do Pará, com grande consumo na culinária amazônica, especialmente, nos períodos
6 festivos, tais como o Círio de Nazaré e festas de fim de ano.

7 Apesar de rústico, o jambu é acometido por algumas doenças que podem causar danos
8 e atraso na produção. Ressalta-se que não há defensivos agrícolas registrados pelo Ministério
9 da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) para controle de fitopatógenos dessa cultura.
10 Assim, a solução para o controle das doenças fica restrita ao manejo integrado, principalmente
11 às medidas preventivas de controle (BOARI, et. al, 2022).

12 O seu composto ativo, espilantol, presente nas folhas, ramos e flores, é utilizado na
13 indústria farmacêutica e cosmética (GUSMÃO; GUSMÃO, 2013; BORGES et al., 2014;
14 BLANCO et. al., 2018) e, as flores para bebidas destiladas como a cachaça. Também é utilizada
15 como erva medicinal, devido ser descrita como antisséptico, anti-inflamatório e anestésico
16 (BARBOSA et al., 2016) e, no controle biológico como a atividade larvicida (SIMAS et al.,
17 2013), atividade inseticida (MORENO et al., 2012) e ação controladora sobre carrapatos
18 (OLIVEIRA et al., 2017). Além disso, o interesse por essa cultura vem aumentando, e seu
19 cultivo está ganhando destaque relevante, expandindo-se para diversas regiões do Brasil. No
20 entanto, a produção dessa hortaliça não apresenta estimativa nos dados oficiais do estado do
21 Pará (EMBRAPA,2014).

22 Devido ao processo de patenteamento para novos produtos no exterior e utilização na
23 gastronomia nacional e internacional, o jambu é uma hortaliça promissora (BORGES et al.,
24 2014) economicamente, podendo se tornar produto de exportação amazônica.

25 De modo geral, as empresas que utilizam produtos naturais, como as indústrias
26 farmacêuticas e de cosméticos, têm optado por cultivo orgânico nos últimos anos, sendo
27 empregados adubos orgânicos como esterco, compostos orgânicos e biofertilizantes, que
28 possam substituir as formas convencionais de produção (LIMA, 2018), uma vez que, os
29 consumidores estão cada vez mais cuidadosos com a qualidade dos produtos (melhor
30 aparência), preocupados com a saúde, conservação do meio ambiente e ausência de agrotóxicos
31 (BUAINAIN et al. 2014), principalmente nos produtos.

32 Recentemente, além da perspectiva do biocontrole, houve o aumento de estudos e aplicação de
33 microrganismos no processo de biofertilização (ELAVARASI, et. al.,2020; HERNÁNDEZ-
34 FERNÁNDEZ, et. al., 2021; KUBHEKA & ZIENA, 2022). A inoculação microbiana passou

35 a ser alternativa confiável em detrimento ao uso de insumos químicos com potencial de ação,
36 seja como agentes de biocontrole, bioherbicidas, biopesticidas ou biofertilizantes (ALORI
37 BABALOLA, 2018). No caso dos fungos, tanto endofíticos quanto micorrízicos, são capazes
38 de atuar como promotores do crescimento vegetal, aumentando a taxa de germinação e
39 melhorando o estabelecimento de mudas, além de aumentar a resistência da planta contra
40 estresses bióticos e abióticos mediante a produção de compostos antimicrobianos, hormônios
41 vegetais e outros compostos bioativos (RAI et al., 2014).

42 O consumo de produtos livres de agrotóxicos se transformou em grande mercado que
43 cresce 20% ao ano, se tornando atraente para grandes empresas. O Brasil já é o segundo país
44 com maior área desse tipo de manejo, atrás apenas da Austrália (FAO, 2019). Muitos
45 consumidores preferem os orgânicos para compensar a falta de fiscalização no uso de pesticidas
46 e fertilizantes químicos na agricultura convencional (AZEVEDO; ARAÚJO, 2007).

47 Nesse contexto, entra a produção de jambu, uma espécie nativa da Região Amazônica
48 que apresenta algumas limitações, como pouca informações sobre ambiente ideal para cultivo,
49 assim como produtos biológicos para o cultivo orgânico. Assim, a adoção de métodos mais
50 ecológicos, como a utilização de defensivos biológicos se torna essencial, pois esses produtos
51 protegem as plantações de pragas e não poluem o meio ambiente (ALVES, 1998).

52 Nesse sentido, o uso de fungos entomopatogênicos na agricultura brasileira vem
53 aumentando significativamente nos últimos anos e diversas empresas nacionais e
54 multinacionais estão desenvolvendo biopesticidas a base de agentes de biocontrole (VINHA,
55 2018). Deve-se considerar que os microrganismos entomopatogênicos (fungos, bactérias e
56 vírus) podem diminuir consideravelmente a população da praga no campo e também auxiliar
57 na promoção do crescimento de plantas (WAQUIL et al., 2006).

58 Estudos recentes com os fungos *Metarhizium anisopliae* (Metchinikoff) Sorokin
59 (Hypocreales: Clavicipitaceae) e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales:
60 Cordycipitaceae) mostraram que, além de causar mortalidade, também são capazes de colonizar
61 endofiticamente ampla variedade de espécies de plantas (AKELLO et al., 2008;
62 GURULINGAPPA et al., 2010; OWNLEY et al., 2010; QUESADA-MORAGA et al., 2009;
63 TEFERA; VIDAL, 2009), proporcionando benefícios no crescimento (SASAN; BIDOCHKA,
64 2012), na aquisição de nutrientes (BEHIE et al., 2012; BEHIE; BIDOCHKA, 2014; FANG; ST.
65 LEGER, 2010), proteção contra fitopatógenos (SASAN; BIDOCHKA, 2013), herbivoria
66 (PARSA et al., 2013) e, estresse abiótico (KHAN et al., 2012).

67 Assim como, fungos do gênero *Trichoderma* apresentam um complexo arsenal de
68 mecanismos envolvidos na proteção de plantas, os quais incluem micoparasitismo, competição

69 por nutrientes, antibiose e produção de enzimas hidrolíticas (LORITO et al., 2010;
70 DRUZHININA et al., 2011; HERMOSA et al., 2014; MONTE et al., 2019). Além disso, devido
71 à plasticidade de seus genomas em expressar múltiplas funções ecológicas, várias espécies de
72 *Trichoderma* promovem o crescimento de plantas (GARCIA-RUBIO et al. 2017; MONTE et
73 al. 2019), contribuem para a melhor utilização de nutrientes (HARMAN 2012) e induzem
74 respostas de defesa contra estresses bióticos e abióticos (HERMOSA et al. 2014; BROTMAN
75 et al. 2010; RUBIO et al. 2017; MONTE et al. 2019).

76 Pesquisas sobre a colonização de fungos entofíticos na cultura do jambu ainda não foram
77 relatadas anteriormente, e a incorporação desses fungos eficazes no controle de pragas e
78 fitopatógenos e ao mesmo tempo capazes de promover o crescimento de plantas representaria
79 ferramenta importante e pioneira na Amazônia Brasileira, na incorporação do cultivo orgânico
80 do jambu, levando em consideração o ambiente ideal de cultivo e manejo da cultura em busca
81 da segurança alimentar através de práticas sustentáveis de cultivo.

82 Diante disso, testou-se a hipótese que fungos entomopatogênicos e *Trichoderma*
83 promovem o crescimento de plantas de jambu, submetidas a diferentes sistemas de plantio
84 (protegido e não protegido) e períodos de cultivo (chuvoso e seco) e, promovem e incrementam
85 mudanças biométricas, fisiológicas e bioquímicas nas plantas. Assim, objetivou-se avaliar o
86 efeito de fungos entomopatogênicos e *Trichoderma* na promoção de crescimento de jambu, em
87 diferentes sistemas de cultivo, nos períodos seco e chuvoso amazônico

88

89 REFERÊNCIAS

90

91 AKELLO, J.; DUBOIS, T.; COYNE, D.; KYAMANYWA, S. Effect of endophytic *Beauveria*
92 *bassiana* on populations of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*, and their damage in
93 tissue-cultured banana plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Wiley, 129, pp. 157-
94 165, 2008a.

95

96 AKELLO, J.; DUBOIS, T.; COYNE, D.; KYAMANYWA, S. Endophytic *Beauveria bassiana*
97 in banana (*Musa spp.*) reduces banana weevil (*Cosmopolites sordidus*) fitness and damage.
98 *Crop Protection*, Guildford, v. 27, n. 11, p. 1437-1441, 2008b.

99

100 ALORI, Elizabeth Temitope; BABALOLA, Olubukola Oluranti. Microbial inoculants for
101 improve crop quality and human health. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 2213, 2018.

102 ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B (Ed.). **Controle microbiano de**
103 **insetos**. Piracicaba: Fealq, cap 11, p. 289-381, 1998.

104

105 AZEVEDO, E. Alimentos orgânicos: ampliando conceitos de saúde humana, social e
106 ambiental. **Tubarão: Editora Unisul**, 2006.

107

- 108 BARBOSA, A. F.; CARVALHO, M. G.; SMITH, R. E.; SABAA-SRUR, A. U. O. Spilanthol:
109 occurrence, extraction, chemistry and biological activities. **Revista Brasileira de**
110 **Farmacognosia**, v. 26, p. 128-133, 2016.
- 111
112 BEHIE, SW; BIDOCHKA, MJ. Ubiquidade da Transferência de Nitrogênio Derivada de
113 Insetos para Plantas por Insetos Endofíticos-Fungos Patogênicos: Um Ramo Adicional do Ciclo
114 do Nitrogênio do Solo. *Appl. Ambiente. Microbiol.* 80, 1553–1560. 2014.
- 115
116 BEHIE, SW; ZELISKO, PM; BIDOCHKA, MJ. Endofíticos Insetos-Parasitas Fungos
117 Translocam Nitrogênio Diretamente de Insetos para Plantas. **Ciência**, 336, 1576–1577. 2012.
- 118
119 BLANCO, V. S. F., MICHALAK, B., ZELIOLI, Í. A. M., OLIVEIRA, A. S. S., RODRIGUES,
120 M. V. N., FERREIRA, A. G., GARCIA, V. L., CABRAL, F. A., KISS, A. K., & RODRIGUES,
121 R. A. F. Isolation of spilanthol from *Acmella oleracea* based on Green Chemistry and evaluation
122 of its in vitro anti-inflammatory activity. **The Journal of Supercritical Fluids**. 140, 372-379.
123 2018. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.07.028>.
- 124
125 BOARI, A.J; QUADROS, A.F.F; BATISTA, I.C.A; KAUFFMANN, C.M; NECHET, K.L.
126 DOENÇAS DO JAMBU. Circular técnica 52, ISSN 1983-0491, Abr. 2022.
- 127
128 BORGES, L.S.; GUERRERO, A.C.; GOTO, R.; LIMA, G.P.P. Índices morfo-fisiológicos e
129 produtividade de cultivares de jambu influenciadas pela adubação orgânica e mineral.
130 **Bioscience. Journal**, v. 30, n. 6, p. 1768-1778, 2014.
- 131
132 BROTMAN, Y., KAPUGANTI, J.G. and VITERBO, A., 2010. *Trichoderma*. *Current Biology*,
133 vol. 20, no. 9, pp. R390-R391. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2010.02.042>. PMID:20462476.
- 134 BUAINAIN, A. M. et al. (Orgs.). *O mundo rural no Brasil do século 21: a formação de um*
135 *novo padrão agrário e agrícola*. 1. ed. Brasília/DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2014,
136 v. 1.
- 137
138 DRUZHININA IS, SEIDL-SEIBOTH V, HERRERA-ESTRELLA A, HORWITZ BA,
139 KENERLEY CM, MONTE E, MUKHERJEE, PK, ZEILINGER S, GRIGORIEV IV,
140 KUBICEK CP. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Mi-*
141 *crobiology* 9: 749759. (<https://doi.org/10.1038/nrmicro2637>). 2011.
- 142
143 ELAVARASI A, PRASAD M, SETH T, SAHOO RK, MADAN K, NISCHAL N, et al.
144 Chloroquine and Hydroxychloroquine for the Treatment of COVID-19: a Systematic Review
145 and Meta-analysis. **J Gen Intern Med**. 2020; 35(11):3308-14.
- 146
147 FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, FAO. Inter-Departmental Working Group
148 on Organic Agriculture. *Organic agriculture*. Disponível em: <http://www.fao.org/organicag/oafaq/oafaq1/es/> Acessado em 02 de maio de 2019.
- 149
150
- 151 GARCIA-RUBIO, R., CUENCA-ESTRELLA, M., AND MELLADO, E. Triazole resistance
152 in *Aspergillus* species: an emerging problem. **Drugs** 77, 599–613. doi: 10.1007/s40265-017-
153 0714-4. 2017.
- 154 GURULINGAPPA, P.; SWORD, G.A.; MURDOCH, G.; McGEE, P.A. Colonization of crop
155 plants by fungal entomopathogens and their effects on two insect pests when in planta.
156 **Biological Control, Orlando**, v. 55, p. 34-41, 2010.

- 157 GUSMÃO, M. T. A.; GUSMÃO, S. A. L. **Jambu da Amazônia: *Acmella oleracea* [(L.) R.**
158 **K. Jansen]: características gerais, cultivo convencional, orgânico e hidropônico.** Belém:
159 Edufra, 2013. 135 p.
160
- 161 HARMAN, G. E.; HERRERA-ESTRELLA, A. H.; HORWITZ, B. A. & LORITO, M. Special
162 issue: *Trichoderma*—from basic biology to biotechnology. ***Microbiology*** 158: 1-2.2012.
163
- 164 HERMOSA, R., CARDOZA, R.E., RUBIO, M.B., GUTIÉRREZ, S. and MONTE, E.
165 Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: V.K. GUPTA, M.
166 SCHMOLL, A. HERRERA-ESTRELLA, R.S. UPADHYAY, I. DRUZHININA and M.G.
167 TUOHY, eds. *Biotechnology and biology of Trichoderma*. Amsterdam: **Elsevier**, pp. 125-137.
168 <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-59576-8.00010-2>. 2014.
169
- 170 HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M.; CORDERO-BUESO, G.; RUIZ-MUÑOZ, M.;
171 CANTORAL, J.M. Culturable Yeasts as Biofertilizers and Biopesticides for a Sustainable
172 Agriculture: A Comprehensive Review. ***Plants*** 2021, 10, 822. [https://doi.org/10.3390/
173 plants10050822](https://doi.org/10.3390/plants10050822).
174
- 175 KHAN, A.L.; HAMAYUN, M; KHAN, S.A., KANG, S.; SHINWARI, Z.K.; KAMRAN, M.;
176 REHMAN, S.; KIM, J.; LEE, I. Pure culture of *Metarhizium anisopliae* LHL07 reprograms
177 soybean to higher growth and mitigates salt stress. ***World Journal of Microbiology and
178 Biotechnology***, v. 28, n. 4, p. 1483-1494, 2012.
179
- 180 KUBHEKA, B.P., AND L.W. ZIENA. *Trichoderma: A biofertilizer and a bio-fungicide for
181 sustainable crop production*. Intechopen. **London**. 2022.
182
- 183 LORITO, M., WOO, S.L., HARMAN, G.E., MONTE, E. Translational research on
184 *Trichoderma*: from ‘omics to the field. *Annu. Rev. Phytopathology* 48, 395e417. 2010.
185
- 186 MONTE, E., BETTIOL, W., and HERMOSA, R., 2019. *Trichoderma e seus mecanismos de
187 ação para o controle de doenças de plantas*. In: M.C. MEYER, S.M. MAZARO and J.C. SILVA,
188 eds. *Trichoderma: uso na agricultura*. **Brasília: Embrapa**, pp. 181-199.
189
- 190 OLIVEIRA, O. M.; MENEZES, K. R. P.; SANTOS, G. C. S.; SANCHES, A. Embalagem e
191 tratamento hidrotérmico na manutenção da qualidade pós-colheita de jambu. ***Revista de
192 Agricultura Neotropical***, v. 4, n. 3, p. 41-49, 2017.
193
- 194 OWNLEY, B.; GWINN, K.; VEJA, F. Endophytic fungal entomopathogens with activity
195 against plant pathogens: ecology and evolution. ***Biological Control***, Orlando, v. 55, n. 1, p.
196 113-128, 2010.
197
- 198 PARSA, S.; ORTIZ, V.; VEGA, F.E. Establishing Fungal Entomopathogens as Endophytes:
199 Towards Endophytic Biological Control. ***Journal of Visualized Experiments***, v. 74, p. 503-
200 560, 2013.
201
- 202 QUESADA-MORAGA, E.; MUNOZ-LEDESMA, F.J.; SANTIAGO-ALVAREZ, C.
203 Systematic protection of *Papaver somniferum* L. against *Iraella luteipes* (Hymenoptera:
204 Cynipidae) by an endophytic strain of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales).
205 ***Environmental Entomology***, College Park, v. 38, n. 3, p. 723-730, 2009.
206

- 207 SAMPAIO, I. M. G.; SILVA JÚNIOR, M. L.; CHAGAS, E. D. S.; BITTENCOURT, R. F. P.
208 M.; COSTA, V. C. N.; SOUZA, D. L.; SANTOS, W. A. S.; TEXEIRA, B. J. B. Evaluation of
209 the Non-destructive Method Efficiency of Estimating Nitrogen Content in Jambu Plants Grown
210 in Hydroponic System. **Journal of Agricultural Studies**, v. 8, n. 2, p. 466-479, 2020.
211
- 212 SASAN, R.K.; BIDOCHKA, M.J. Antagonism of the endophytic insect pathogenic fungus
213 *Metarhizium robertsii* against the bean plant pathogen *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*.
214 **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 35, n. 3, p. 288-293, 2013.
215
- 216 TEFERA T, VIDAL S. Efeito do método de inoculação e meio de crescimento vegetal na
217 colonização endofítica do sorgo pelo fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*.
218 **BioControl** 54:663–669. 2009. [https:// doi.org/10.1007/s10526-009-9216-y](https://doi.org/10.1007/s10526-009-9216-y).
219
- 220 WAQUIL, J.M.; VIANA, P.A.; CRUZ, I. Cultivo do Milho. Sete Lagoas: EMBRAPA MILHO
221 E SORGO, 2006. (**Documento Técnico**). Disponível em: <
222 [http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_2ed/prmo](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_2ed/prmonitoramento.htm)
223 [nitoramento.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_2ed/prmonitoramento.htm)>. Acesso em: 18 ago. 2012.
- 224

225 **AÇÃO DE MICRORGANISMOS COMO PROMOTORES DO CRESCIMENTO EM DE**
226 **PLANTAS DE *Acmella oleracea* L. SUBMETIDAS A DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO**

227

228 **RESUMO**

229

230 Recentemente um dos grandes desafios a ser superado é manter e aumentar a produtividade de hortaliças,
231 como o jambu, *Acmella oleracea*, sem a aplicação de produtos químicos, utilizando-se processos
232 naturais e organismos vivos que estimulem a produção vegetal, com menos resíduos tóxicos, no meio
233 ambiente e nos alimentos. Objetivo-se avaliar a promoção de crescimento de plantas de
234 *A.oleraceae* , através de respostas biométricas, agronômicas e fisiológicas, após aplicação de
235 fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* e do promotor de
236 crescimento *Trichoderma asperellum*, sob sistemas de plantio protegido e não protegido, nos
237 períodos chuvoso e seco amazônico. Foram conduzidos dois ensaios simultaneamente, em área
238 comercial de agricultura periurbana no município de Ananindeua, Pará, Brasil, em canteiros suspensos
239 protegido e não protegido, nos períodos chuvoso e seco. Os tratamentos utilizados foram; *Beauveria*
240 *bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, pool de *Trichoderma asperellum* (Isolados UFRA T06, UFRA T09,
241 UFRA T12, UFRA T52) e tratamento controle, com aplicação de água. Para os dados de biometria,
242 biomassa e trocas gasosas, foi examinados pelo teste F ($P \leq 0.05$). Os isolados fungícos de *M. anisopliae*,
243 *B. bassiana* e *T. asperellum* promoveram incrementos no plantio de jambu, em sistema de plantio
244 protegido e não protegido, nos dois ciclos de cultivo. No entanto, o tratamento com *M. anisopliae* se
245 igualou aos resultados com o promotor de crescimento *T. asperellum*. Além disso, as plantas de jambu,
246 apresentaram melhor desenvolvimento em todos os tratamentos, em sistema de plantio protegido, nos
247 dois períodos avaliados. Desse modo, conclui-se que plantas tratadas com fungos entomopatogênicos
248 *M. anisopliae* e *B. bassiana*, assim como plantas tratadas com o *T. asperellum* demonstraram maiores
249 índices de crescimento, biomassa e trocas gasosas em plantas de *A. Oleracea*. Entretanto o fungo *M.*
250 *ansiopliae* e *T. asperellum* se destacaram por favorecer maior desempenho em todos os parâmetros de
251 crescimento avaliados, principalmente no sistema de cultivo protegido e no período chuvoso amazônico.

252

253 **PALAVRAS-CHAVE;** PANC; Cultivo protegido; Fungos; Trocas gasosas; Produção

254

255

256

257

258

259

260

261 **ABSTRACT**

262

263 Recently, one of the great challenges to be overcome is to maintain and increase the productivity
264 of vegetables, such as jambu, *Acmella oleracea*, without the application of chemical products,
265 using natural processes and living organisms that stimulate plant production, with less toxic
266 residues in the environment and food. The aim of this study was to evaluate the growth
267 promotion of *A. oleraceae* plants, through biometric, agronomic and physiological responses,
268 after application of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium*
269 *anisopliae* and the growth promoter *Trichoderma asperellum*, under protected and unprotected
270 planting systems, in the rainy and dry periods of the Amazon. Two trials were conducted
271 simultaneously, in a commercial area of peri-urban agriculture in the municipality of
272 Ananindeua, Pará, Brazil, in protected and unprotected hanging beds, during the rainy and dry
273 periods. The treatments used were *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, a pool of
274 *Trichoderma asperellum* (Isolates UFRA T06, UFRA T09, UFRA T12, UFRA T52) and a
275 control treatment with water. Biometry, biomass and gas exchange data were examined using
276 the F test ($P \leq 0.05$). The fungal isolates of *M. anisopliae*, *B. bassiana* and *T. asperellum*
277 promoted increases in jambu planting, in protected and unprotected planting systems, in both
278 crop cycles. However, the treatment with *M. anisopliae* matched the results with the growth
279 promoter *T. asperellum*. In addition, the jambu plants showed better development in all the
280 treatments, in the protected planting system, in the two periods evaluated. It can therefore be
281 concluded that plants treated with the entomopathogenic fungi *M. anisopliae* and *B. bassiana*,
282 as well as plants treated with *T. asperellum*, showed higher growth rates, biomass, and gas
283 exchange in *A. oleracea* plants. However, the fungus *M. anisopliae* and *T. asperellum* stood out
284 for favoring greater performance in all the growth parameters evaluated, especially in the
285 protected cultivation system and in the Amazon rainy season.

286

287 **KEYWORDS**; PANC; Protected cultivation; Fungi; Gas exchange; Production

288

289

290

291

292

293

294

295 INTRODUÇÃO

296 O jambu é uma planta alimentícia não convencional (PANC), da região amazônica,
297 muito consumida nos estados do, Acre, Amazonas e Pará , com expressivo potencial
298 econômico, e pertencente à família Asteraceae (GUSMÃO; GUSMÃO, 2013; HOMMA, 2017;
299 SILVA et al., 2020). Essa PANC é uma hortaliça peculiar da região norte, principalmente no
300 estado do Pará, onde é consumido em grande escala nos pratos típicos, como o pato no tucupi,
301 tacacá, arroz com jambu, pizza, e nas bebidas alcoólicas, como cachaça e licor de jambu. Além
302 disso, o jambu tem na composição, em torno de 0,7 % de óleo essencial (LORENZI et al.,
303 2002).

304 Os consumidores buscam nas hortaliças fonte de saúde para si e familiares (GUSMÃO
305 & GUSMÃO, 2009), devido serem fontes de vitaminas, fibras e nutrientes (Adicionar
306 referência). Tal importância se reflete também no grande desafio de manter e fazer aumentar a
307 produtividade de hortaliças, como o jambu, e diminuir o excesso de aplicação de produtos
308 químicos, utilizando-se processos naturais e organismos vivos que estimulem a produção
309 vegetal. Nos últimos anos, a agricultura mundial tem passado por uma reflexão de seus rumos,
310 visto ser crescente a preocupação com alguns efeitos adversos da tecnologia convencional, de
311 base agroquímica, sobre o meio ambiente (BENNEKOU, 2019).

312 Um método para aumentar a eficácia dos fertilizantes químicos e reduzir a quantidade
313 destes insumos usados no meio de produção agrícola é a utilização de microrganismos
314 promotores do crescimento de plantas (SPOLAOR et al., 2016). Pesquisas em espaços com
315 ambientes controlados afirmam que quando tratadas com várias espécies de fungos simbioses,
316 endofíticos ou micorrízicos, no geral as plantas são frequentemente mais saudáveis do que as
317 não tratadas (KHAN et al. 2008; HYDE; SOYTONG, 2008; STROBEL, 2003).

318 Os fungos entomopatogênicos são definidos como biopesticidas, devido parasitarem
319 insetos, no entanto, também possibilitam o desenvolvimento das plantas e aumentam a
320 produção de culturas (LACEY, 2015). Existem vários fungos que possuem a capacidade de
321 infectar, matar e digerir nematoides, sendo chamados de fungos nematófagos, além de
322 infectarem insetos (NORDBRING-HERTZ; JANSSON; TUNLID, 2006). Alguns desses têm
323 habilidade de colonizar tecidos de raízes, já outros estão localizados na região entorno das raízes
324 de cultura de significativa importância (LOPEZ-LLORCA et al., 2006).

325 Os benefícios da utilização do fungo *Trichoderma* como promotor de crescimento têm
326 sido observados desde a germinação até o manejo nos primeiros anos de vida no campo,
327 podendo ser inoculado nas sementes, substratos e até por meio da irrigação das culturas, pois
328 protege as raízes das plantas contra patógenos (Lucon, 2014). O fungo *Trichoderma* é citado na

329 literatura como promotor de crescimento e existem diversos estudos sobre a utilização desse
330 fungo em culturas agrícolas, porém no jambú ainda não há relatos.

331 Assim como, estudos sobre a colonização de fungos entomopatogênicos na cultura do
332 jambu com ênfase na promoção de crescimento, ainda não foram relatados, esta pesquisa é
333 pioneira. E são muito incipientes os trabalhos que estudam os efeitos endofíticos desses fungos,
334 assim como não é conhecido também o seu potencial inoculados em jambu e suas relações com
335 as pragas.

336 Neste contexto, o presente estudo tem a hipótese, que fungos entomopatogênicos
337 promovem o crescimento de plantas de jambu, e o objetivo da pesquisa foi avaliar a promoção
338 de crescimento de plantas de jambu, através de respostas biométricas, agronômicas e
339 fisiológicas, após aplicação de fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium*
340 *anisopliae* e do promotor de crescimento *Trichoderma asperellum*, sob sistemas de plantio
341 protegido e não protegido, nos períodos chuvoso e seco amazônico.

342

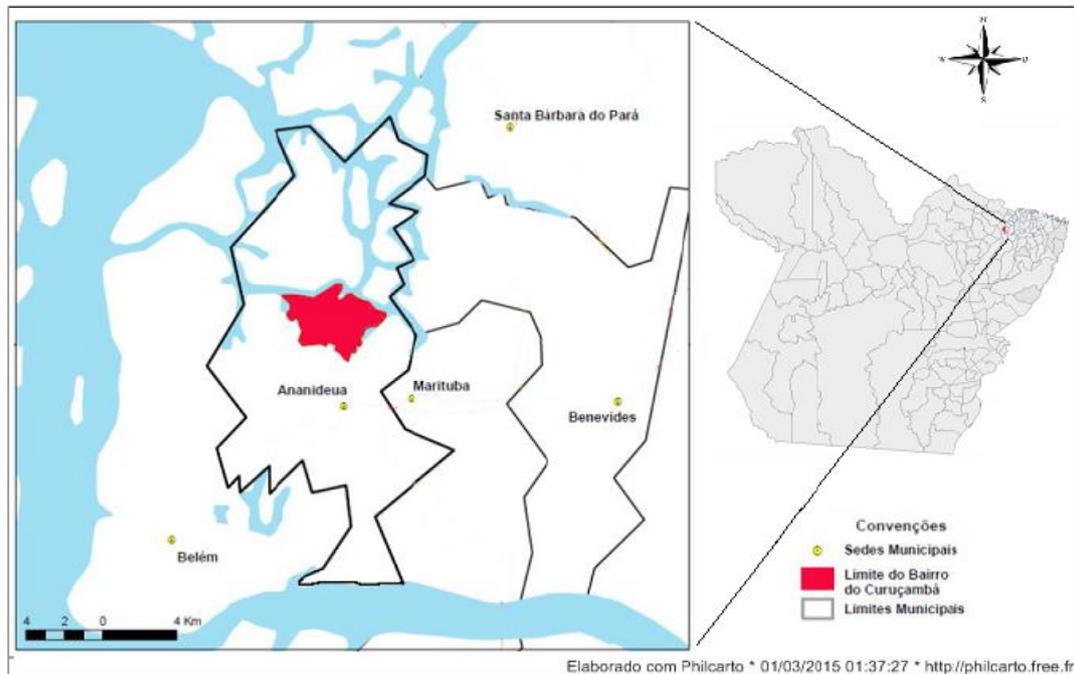
343 **2. MATERIAL E MÉTODOS**

344 **2.1 Localização da área experimental**

345 Os bioensaios foram conduzidos em área comercial, pertencente a Associação dos
346 Produtores e Hortifrutigranjeiros da Gleba do Guajará – APHA, localizada na área urbana e
347 periurbana do município de Ananindeua, entre as coordenadas geográficas 1°19'28.55" S e
348 48°23'16.96". Os ensaios foram realizados simultaneamente em condições de campo, em
349 canteiros suspensos protegidos e não protegidos, em dois períodos de cultivo, sendo o primeiro
350 plantio no mês de março/2021, período chuvoso, e o segundo em setembro/2021, período seco
351 (Figura 1).

352

353 Figura 1. Localização geográfica da área de estudo, pertencente a Associação dos
 354 Produtores e Hortifrutigranjeiros da Gleba do Guajará – APHA, localizada em área
 355 Urbana e Peri urbana do município de Ananindeua, Pará, Brasil.



356 Fonte: Elaborado em <http://philcarto.free.fr/>

357

358 2.2 Seleção dos microrganismos promotores de crescimento

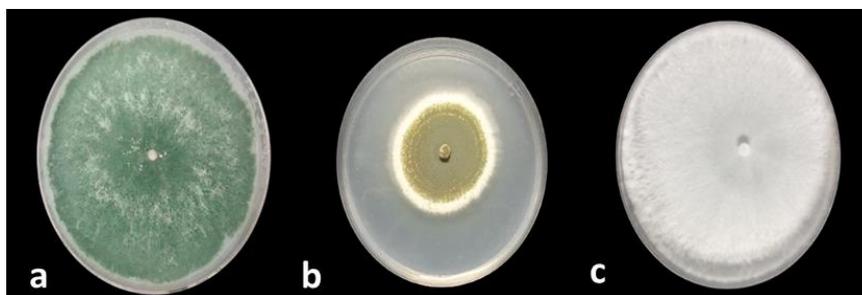
359 Os isolados fúngicos de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *T. asperellum* utilizados, são
 360 nativos da Amazônia Brasileira e pertencem a Micoteca do Laboratório de Proteção de Plantas,
 361 da Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, onde estão armazenados em Castelanni
 362 sob temperatura de 26°C.

363 Os isolados de entomopatogênicos foram selecionados por meio de bioensaios de
 364 screening toxicológico que mostraram resultados promissores quanto a patogenicidade, na
 365 colonização endofítica, do besouro *Tenebrio molitor*, em laboratório (Figura 2). O fungo
 366 *Trichoderma asperellum* já foi relatado anteriormente como promotor de crescimento de arroz
 367 (DE SOUSA, et al., 2021) e banana (MAUÉS, et al., 2022). Destacando, portanto, sua utilização
 368 pioneira, como promotor de crescimento de plantas de jambu, nesta pesquisa, na Amazônia
 369 Brasileira.

370

371
372
373
374

Figura 2. Colônias de fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento utilizados como promotores de crescimento de plantas de *Acmella oleracea*. a) *Trichoderma asperellum* b) *Metarhizium anisopliae* c) *Beauveria Bassiana*.



375 Fonte: Autor, 2022.

376
377

378 2.3 Obtenção e semeadura das plantas de jambu

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

As sementes de *A. oleracea* de flor amarela foram obtidas no banco de sementes ativo na área da Associação dos Produtores e Hortifrutigranjeiros da Gleba do Guajará – APHA. A semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno expandido para 128 células, utilizando-se substrato a base de composto orgânico peneirado, produzido a partir de caroço de açaí triturado e cama de aviário, na proporção 2:1. Foram semeadas dez sementes por célula, com finalidade de garantir, no momento do transplante, duas plântulas por célula, necessitando a realização de desbaste após a germinação, para deixar o número desejado de plântulas. A bandeja contendo as mudas foi acondicionada em ambiente protegido com 20% de redução na radiação, molhadas manualmente, duas vezes ao dia, até a capacidade de campo do substrato. As plantas com quatro folhas, foram transplantadas 20 dias após semeadura, sendo colocadas duas mudas por cova no espaçamento de 5 cm x 10 cm.

390

391

392

393

394

395

396

397

398

Os canteiros suspensos foram adubados com 3 kg de composto orgânico por m², incorporado nos 10 cm superficiais do solo. Utilizou-se o sistema de produção em canteiros suspensos, com 80 cm de altura, 1,40 m de largura e 20 m de comprimento, em estufas de madeira protegido com filme plástico difusor de 100 micras, com proteção UV e antioxidantes com aditivos que distribuem a luz dentro da estufa e reduz em 20% a radiação, e em canteiros suspensos não protegidos, em parcelas de 1 metro quadrado subdivididas em 0,20 x 0,20m. As mudas foram irrigadas com micro aspersor de vazão 90L.h⁻¹ por 20 minutos, duas vezes ao dia. Também foi realizado o controle de plantas daninhas, de forma manual.

399 **2.4 Preparo das suspensões fúngicas e inoculação dos microrganismos**

400 Os três isolados fúngicos foram preparados a partir de discos armazenados em
401 Castelanni, colocados em placas de Petri contendo meio BDA (Batata- Dextrose-Agar), para
402 crescimento das colônias puras. Os conídios foram colhidos com espátula estéril e suspensos
403 em água destilada estéril, em seguida, centrifugados a 3.000 RPM por três minutos para
404 remover fragmentos de hifas, conídios aglomerados e pedaços de ágar, repetido duas vezes.
405 Cada suspensão foi ajustada em 1×10^8 conídios.mL⁻¹ com auxílio da câmara de Neubauer, e
406 inoculados em arroz usando suspensões na concentração ajustada, para armazenamento.

407 Foram realizadas duas aplicações de cada tratamento, no dia do transplântio das mudas
408 e 15 dias após o transplântio. A inoculação dos fungos foi realizada através da aplicação direta
409 de 20 mL da suspensão de conídios no substrato, regados 20 mL de suspensão a 1×10^8
410 conídios.mL⁻¹ por planta.

411

412 **2.5 Avaliação de crescimento e biomassa**

413 A colheita do jambu foi realizada aos 25 dias após o transplântio. Foram analisadas as
414 seguintes variáveis biométricas: a) comprimento da parte aérea (cm); determinado com auxílio
415 de uma trena, medindo-se a planta do colo até o ápice da parte aérea, b) diâmetro do coleto,
416 mensurado com paquímetro digital (precisão de 0,02 mm); c) massa fresca e seca da parte aérea
417 (g), verificada após secagem em estufa de ar de ventilação forçada a 65 °C, até o material
418 atingir massa constante, utilizando balança digital, com precisão de 0,01 g; d) índice de
419 robustez, calculado pela razão entre a altura da planta e o diâmetro do coleto e, e) índice de
420 clorofila (%), obtido pelo medidor portátil SPAD, sendo a leitura realizada na segunda folha,
421 fisiologicamente madura e completamente expandida, a partir do ápice da haste principal
422 (SAMPAIO et al., 2021), onde foram realizadas cinco leituras em cada folha. Todos os dados
423 foram avaliados conforme recomendação de Castro et al. (2019).

424

425 **2.6 Trocas gasosas**

426 As análises fisiológicas foram realizadas um dia antes da colheita. As avaliações das
427 trocas gasosas foram ocorreram pela manhã, entre 9:00 e 11:00 h, sendo a leitura efetuada na
428 segunda folha a partir do ápice da haste principal, sob uma concentração interna de CO₂ de 400
429 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) artificial de 1200 $\mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$
430 ¹. O intervalo de medição foi ajustado de acordo com os resultados obtidos na curva diurna de
431 trocas gasosas para a espécie (SAMPAIO et al., 2021). Foram avaliadas a taxa de fotossíntese

432 líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração intercelular
433 de CO_2 (C_i , μmol^{-1}) e eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i) - obtida pela razão entre A
434 e C_i , por meio de um analisador de gases infravermelho portátil (IRGA, modelo LI 6400XT, da
435 marca LICOR®).

436

437 **2.7 Delineamento experimental e análise estatística**

438 O experimento foi realizado em blocos casualizados, em esquema fatorial (4 x 2), sendo
439 três tratamentos fúngicos: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma*
440 *asperelium* (Pool dos isolados UFRA T06, UFRA T09, UFRA T12, UFRA T52) e controle com
441 água com cinco repetição contendo 16 plantas em cada, sendo avaliadas 2 plantas por repetição
442 considerando o efeito de bordadura.

443 Inicialmente foi realizada a verificação de presença de dados discrepantes (GRUBBS,
444 1969), normalidade dos erros (SHAPIRO; WILK, 1965) e homogeneidade das variâncias
445 (BARTLETT, 1937). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F
446 ($p < 0.05$) e, as médias comparadas pelo teste Tukey ($p < 0.05$) usando-se o software R (versão
447 4.1.0 para Windows)

448

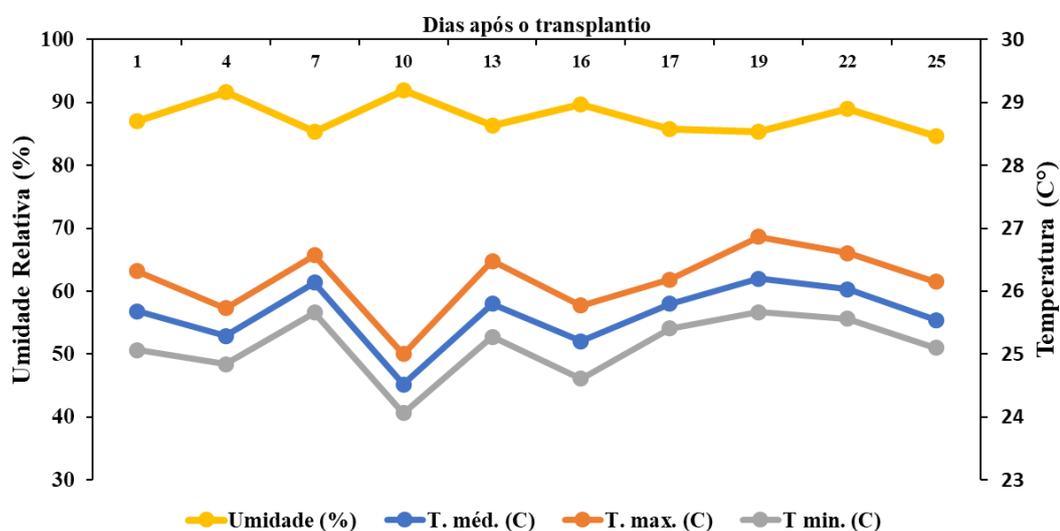
449 **3. RESULTADOS**450 **Seleção de microrganismos entomopatogênicos como promotores de crescimento de**
451 **Jambu sistema de plantio protegido e não protegido no período chuvoso**

452

453 Os valores médios de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%), no período
454 chuvoso, na área experimental de cultivo das plantas de jambu são observados na Figura 3 e
455 precipitação (mm) na Figura 4.

456

457 Figura 3. Valores médios de umidade relativa e temperaturas mínimas, médias e
458 máximas mensuradas durante a condução do experimento no período chuvoso
459 amazônico, em março/2021. Município de Ananindeua, estado do Pará.



460

461

462 Em relação aos sistemas de plantio, aos 25 dias após transplante, foi observada na
463 interação que houve diferença significativa para todos os parâmetros de crescimentos avaliados.
464 No sistema de cultivo protegido foi observado aumento em todas as variáveis avaliadas (Figura
465 5a, b, c e d). Os incrementos no sistema protegido foram de 90,3% para AL, 47,8% para o DC,
466 710% para IC e 33,5% para IR, respectivamente, em relação ao não protegido.

467

468 O fungo *M. anisopliae*, assim como o fungo *T. asperellum* proporcionaram os melhores
469 resultados em relação à promoção do crescimento, em comparação ao tratamento controle
(água) (Figuras 5a, b, c e d).

470

471

472

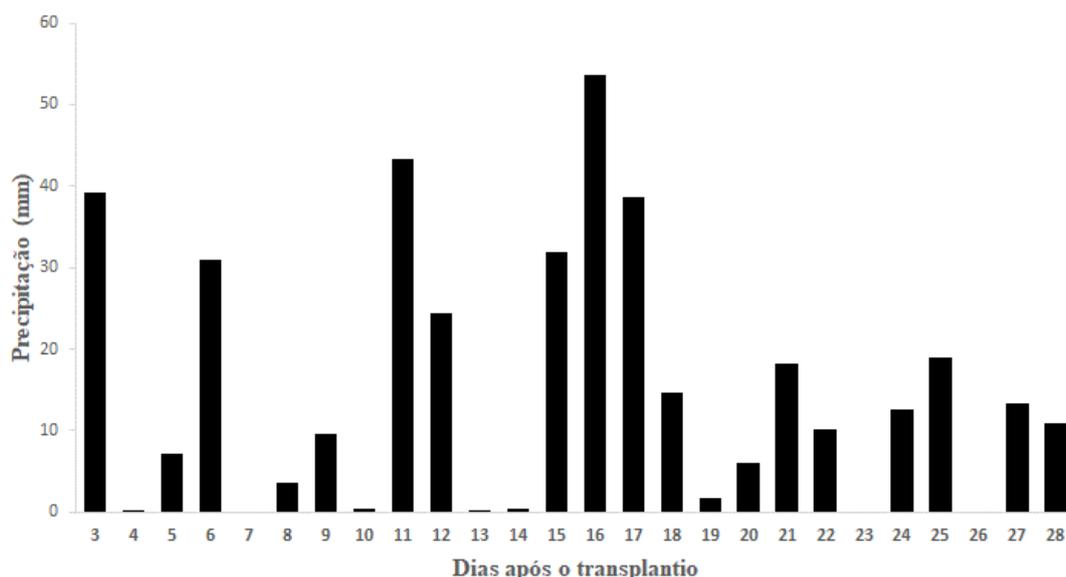
473

474

475

476
477
478

Figura 4. Médias de precipitação diária mensuradas durante a condução do experimento no período chuvoso amazônico, em março/2021. Município de Ananindeua, Pará, Brasil.



479
480

481 Quanto aos resultados de crescimento em AL no sistema protegido, os tratamentos com
482 *M. anisopliae* e *T. asperellum* apresentaram diferença significativa em relação ao controle,
483 ocasionando incrementos de 22% e 21% (Figura 5a).

484 Para o sistema não protegido no parâmetro de crescimento AL, com exceção das plantas
485 que receberam o fungo *T. asperellum*, os demais tratamentos diferiram significativamente do
486 controle (Figura 5a). Os incrementos observados nesse sistema de cultivo foram em média de
487 47% para o *M. anisopliae* e *B. bassiana*.

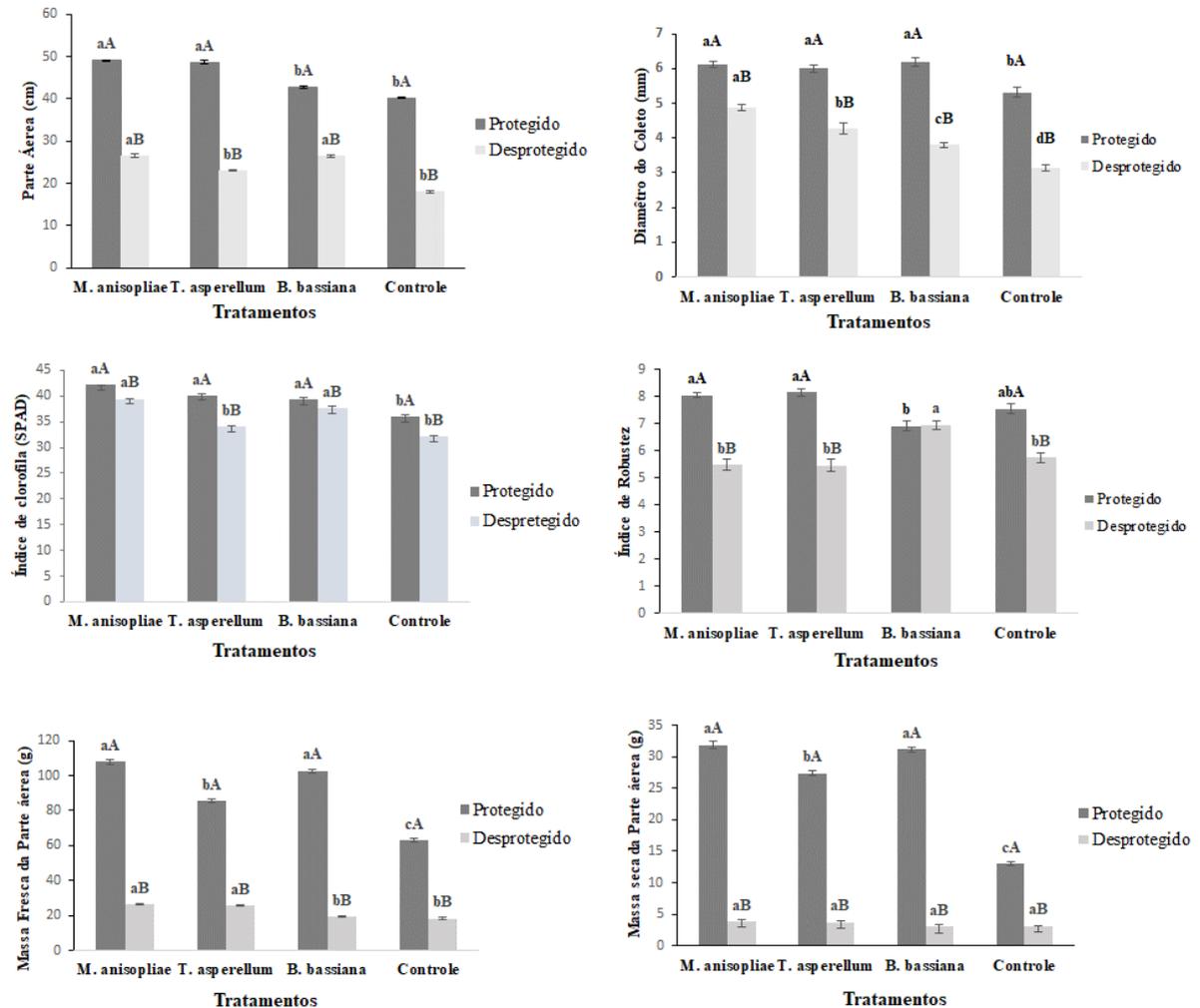
488 Em relação ao DC no sistema protegido, todos os tratamentos diferiram do controle
489 (Figura 4b) e ocasionaram incremento médio de 15%. . No sistema não protegido, para essa
490 mesma variável, todos os tratamentos diferiram entre si. Os maiores aumentos foram
491 observados por *M. anisopliae* (55%), seguido por *T. Asperellum* (36%), e *B. bassiana* (21%),
492 em relação ao controle (Figura 5b).

493 Na análise do Índice de clorofila (SPAD), houve significância para todos os tratamentos,
494 em relação ao controle no sistema protegido (Figura 5c), com incrementos de 17% para o
495 tratamento com *M. anisopliae*, de 11% para *T. asperellum* e de 9% para *B. bassiana*, em relação
496 ao controle. Para o sistema não protegido, apenas os tratamentos com *M. anisopliae* e *B.*
497 *bassiana* diferiram do tratamento controle, com aumentos de 24% e 18%, respectivamente
498 (Figura 5c).

499 Em relação ao Índice de robustez, para o sistema protegido, nenhum tratamento diferiu
500 do controle (Figura 5d). No sistema não protegido, apenas o tratamento com *B. bassiana* diferiu

501 significativamente do controle (Figura 5d) e incrementou em 21% as plantas tratadas com esse
502 fungo.

503 Figura 5. Altura (cm), diâmetro do coleto (mm), índice de clorofila (%), índice de robustez e
504 massa seca e fresca da parte aérea (g), de plantas de *Acmella oleracea*, após aplicação fungos
505 entomopatogênicos e promotor de crescimento, em sistema protegido e não protegido, no
506 período chuvoso amazônico, no município de Ananindeua, Pará, Brasil



507
508 *Letras minúsculas comparam médias em um mesmo sistema e letras maiúsculas comparam médias entre sistemas,
509 pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
510
511

512 Em relação ao incremento de biomassa, comparando os sistemas de plantio, houve
513 resultados significativos, onde os dados de massa fresca e seca da parte aérea tiveram maiores
514 incrementos no sistema protegido, com 299% e 650%, respectivamente. (Figura 5 d)

515 No sistema protegido, o tratamento com *M. anisopliae* aumentou em 71% a massa fresca
516 das plantas e o tratamento com *B. bassiana* aumentou em 61% essa variável, em relação ao
517 tratamento controle, mas não diferiram entre si (Figura 6 e 8).

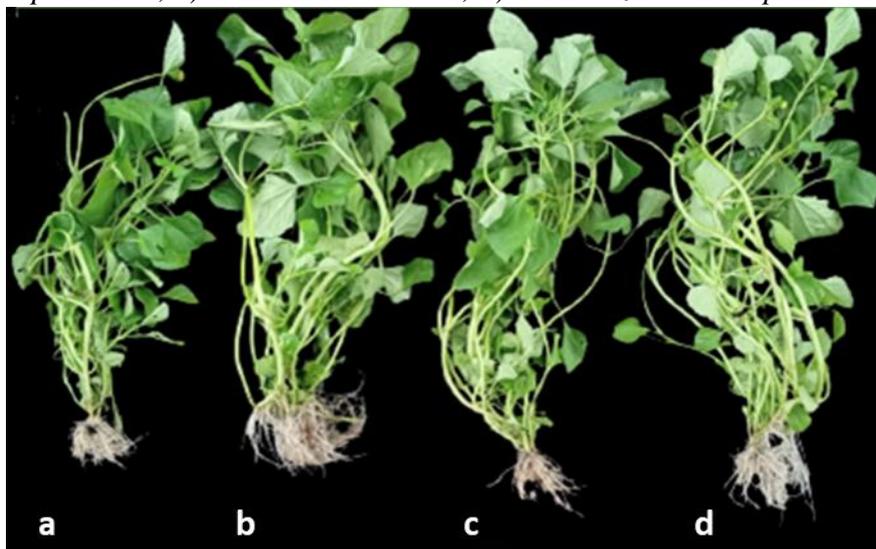
518 Para a massa fresca da parte aérea no sistema não protegido, houve diferença
519 significativa para os tratamentos com *M. anisopliae* e *T. asperellum* em relação ao controle
520 (Figura 5e), ocasionando incrementos de 45% e 41%, respectivamente.

521 Os maiores incrementos na massa seca da parte aérea também foram evidenciados no
 522 sistema protegido, onde o tratamento com *M. anisopliae* aumentou em 145% essa variável,
 523 seguido de *B. bassiana* (139%) e *T. asperellum* (110%), em relação ao tratamento controle. No
 524 sistema não protegido, os tratamentos com *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *T. asperellum* tiveram
 525 aumento de 24%, 23% e 17%, respectivamente, em relação ao controle, no entanto, não houve
 526 diferença entre os tratamentos (Figura 5f).

527

528

529 Figura 6. Plantas de *Acmella oleracea*, após aplicação de fungos
 530 entomopatogênicos e promotor de crescimento, em sistemas de
 531 plantio protegido, no período chuvoso. a) Controle, b) *Trichoderma*
 532 *aspererellum*, c) *Beauveria bassiana*, d) *Metarhizium anisopliae*



533

Fonte: Autor, 2021

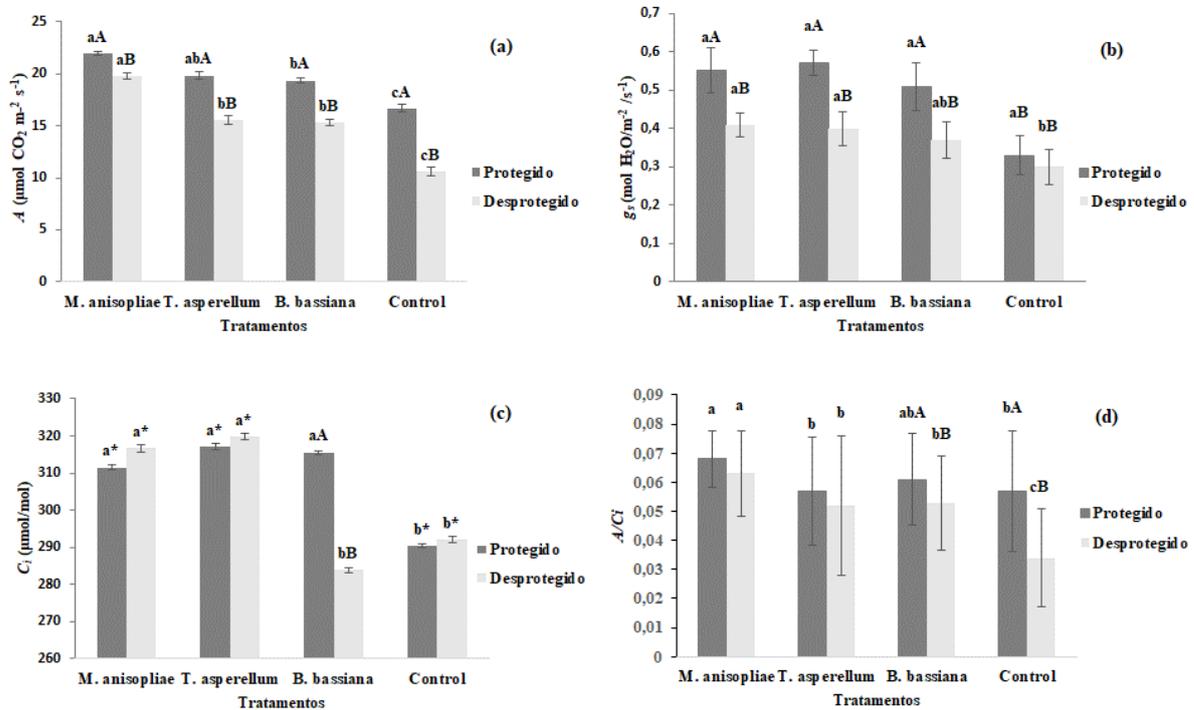
534

535 Quanto às trocas gasosas, comparando os parâmetros avaliados na intereção dos
 536 sistemas, houve diferença para a maioria deles. Em A os incrementos foram evidenciados no
 537 sistema protegido em 27%, em relação ao sistema não protegido. Para g_s também houve
 538 diferença significativa entre os sistemas (Figura 7b), onde o sistema protegido incrementou em
 539 33% em relação ao sistema não protegido. Em relação ao C_i , de acordo com a interação, apenas
 540 o tratamento com *B. bassiana* incrementou em 11% no sistema protegido em relação ao não
 541 protegido. Os outros tratamentos não diferiram. Para os resultados de A/C_i houve diferença para
 542 o tratamento *B. bassiana* nos sistemas (Figura 7d), onde o aumento foi de 7%, evidenciado no
 543 sistema protegido, em relação ao sistema não protegido.

544

545 Figura 7. (a) Trocas gasosas: fotossíntese líquida ($A-\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (b) Condutância
 546 estomática ($g_s-\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (c) Concentração interna de CO_2 ($C_i-\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) e (d)

547 Eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i), após aplicação de fungos entomopatogênicos e
 548 promotor de crescimento em plantas de *Acmella oleracea*, em sistema protegido e não
 549 protegido, no período chuvoso amazônico, no município de Ananindeua, Pará, Brasil



550
 551
 552
 553

*Letras minúsculas comparam médias em um mesmo sistema e letras maiúsculas comparam médias entre sistemas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de significância.

554

555

556

557

558

Resultados positivos foram demonstrados na avaliação de trocas gasosas entre os inoculantes fúngicos no sistema protegido, em relação ao controle. Para os tratamentos no sistema protegido, em relação à A , o maior aumento foi para *M. anisopliae* com 32%, seguidos por *B. bassiana* e *T. asperellum* que aumentaram em 16% e 19% respectivamente, em relação ao controle (Figura 7a).

559

560

561

562

Quanto ao sistema não protegido para A , houve diferença para todos os tratamentos em relação ao controle negativo, como demonstrado na figura 7a. Os maiores incrementos foram demonstrados nos tratamentos *M. anisopliae* e *T. asperellum* com 87% e 47%, que não diferiram entre si. Seguidamente por *B. bassiana* que aumentou em 45% em relação ao controle.

563

564

565

566

567

568

569

Quanto aos resultados de g_s , comparando os tratamentos no sistema protegido, os tratamentos com *T. asperellum* e *M. anisopliae* promoveram os maiores incrementos em 72% e 66%, e não diferiram entre si. *B. bassiana* em 54%, todos diferiram do controle, como apresentados na figura 7b. No sistema não protegido, todos os tratamentos também diferiram do controle negativo, os maiores aumentos foram para *M. anisopliae* e *T. asperellum*, e os incrementos foram de 36% e 33%, respectivamente, e o tratamentos com *B. bassiana* incrementou em 23% (Figura 7b).

570 No sistema protegido, para os resultados de C_i , os tratamentos com *M. anisopliae*, *T.*
571 *asperellum* e *B. bassiana*. promoveram aumento de 8% em média, em relação ao controle
572 (Figura 7c). No sistema não protegido apenas os tratamentos com *T. asperellum* e *M. anisopliae*
573 diferiram do controle e promoveram incremento em média em 9%, como demonstrados na
574 Figura 6c.

575 De acordo com as respostas da variável A/C_i no sistema protegido, os aumentos foram
576 demonstrados principalmente nos tratamentos fúngicos *M. anisopliae* com 19% e *B. bassiana*
577 que aumentou em 7%, diferindo do controle (Figura 7d). No sistema não protegido a A/C_i teve
578 sua máxima (0,063) nos tratamentos com *M. anisopliae*, seguido por *B. bassiana* e *T.*
579 *asperellum* (Figura 7d), os incrementos foram de 85%, 56% e 52%, respectivamente, em
580 relação ao controle.

581

582

583

584 Figura 8. Plantas de *Acmella Oleracea*, após aplicação de
585 fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento em
586 sistema de plantio não protegido, no período chuvoso. a)
587 Controle, b) *Trichoderma asperellum*, c) *Beauveria bassiana*.,
588 d) *Metarhizium anisopliae*



589

590

Fonte: Autor, 2021

591 **Seleção de entomopatogênicos como promotores de crescimento de Jambu em**
592 **sistemas de plantio protegido e não protegido no período seco**

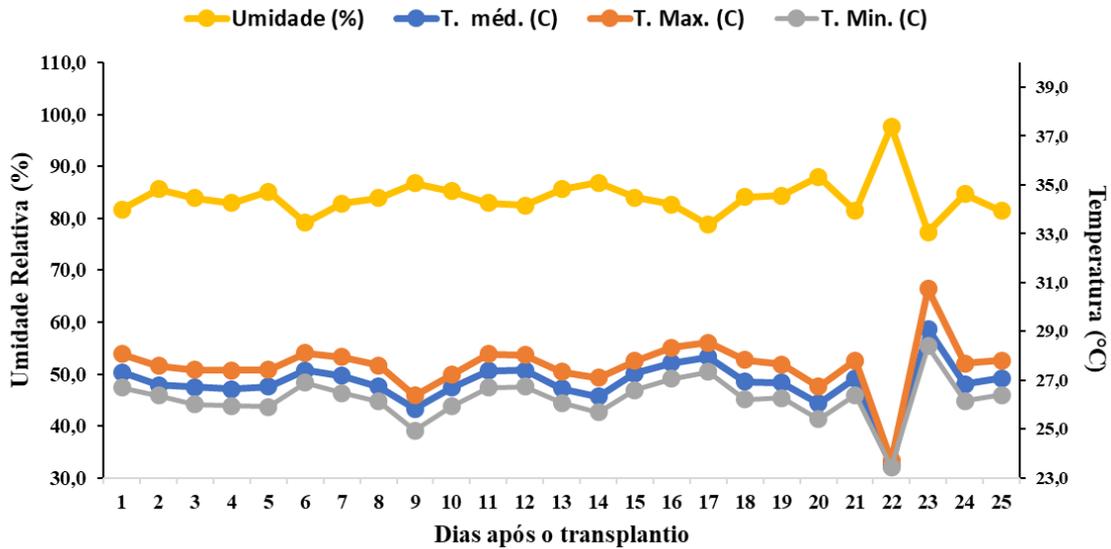
593

594 Para compreender as condições climáticas da área experimental de cultivo de jambu,

595 é possível observar na Figura 9 os valores médios de temperatura, umidade relativa do ar e
 596 precipitação na Figura 10, durante o período seco amazônico, no município de Ananindeua,
 597 estado do Pará.

598

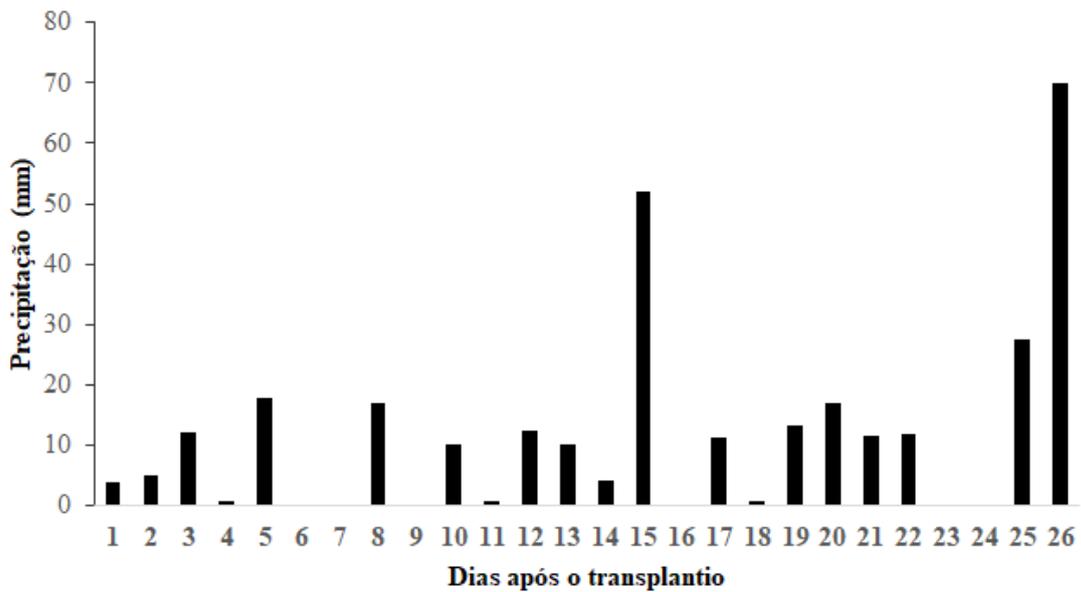
599 Figura 9. Valores médios de umidade relativa e temperaturas mínimas, médias e máximas
 600 mensuradas durante a condução do experimento no período seco amazônico, em
 601 setembro/2021. Município de Ananindeua, estado do Pará.



602

603

604 Figura 10. Médias de precipitação diária mensuradas durante a condução do experimento
 605 no período seco amazônico, em setembro/2021. Município de Ananindeua, estado do Pará.



606

607

608

609

610

As figuras 11, 12, 13 e 14 apresentam os resultados obtidos em relação aos parâmetros

611 de crescimento, biomassa e trocas gasosas de plantas inoculadas com *T. asperellum*, *B.*
612 *bassiana* e *M. anisopliae*, em sistema de plantio suspenso protegido e não protegido, no
613 segundo ciclo de cultivo. Em relação a interação entre os sistemas, houve diferença para todas
614 as variáveis analisadas ($p < 0,05$). Na figura 11, estão demonstrados os resultados de
615 parâmetros de crescimento do jambu, quando comparados os sistemas de plantio houve
616 diferença significativa entre os sistemas. E de acordo com os resultados da interação, o cultivo
617 protegido apresentou melhores resultados nas variáveis altura, diâmetro do coleto e índice de
618 robustez, para os resultados de teor de clorofila (SPAD) houve diferença significativa apenas
619 no tratamento com *B. bassiana* (Figura 11).

620 Os resultados de comprimento da parte aérea no sistema protegido, mostraram que as
621 melhores respostas foram observadas para o tratamento *M. anisopliae*, resultando em um
622 incremento de 29%, seguido pelos tratamentos com *T. asperellum* e *B. bassiana*, que
623 proporcionaram aumentos na altura de 23% e 17%, respectivamente, em relação ao controle
624 (Figuras 11A e 12). No sistema não protegido todos os tratamentos *M. anisopliae*, *T.*
625 *asperellum* e *B. bassiana* apresentaram resultados positivos para variável altura, os
626 incrementos foram de 29%, 23% e 17%, respectivamente, quando comparados ao controle
627 (Figuras 11 e 12A).

628 Em relação ao diâmetro do coleto apresentados na figura 11B, observamos que tanto
629 para o sistema protegido quanto para o sistema não protegido, os isolados fúngicos que
630 apresentaram resultados positivos para essa variável foram *M. anisopliae* e *T. asperellum*,
631 com a melhor resposta para os dois sistemas, do inoculante *M. anisopliae* (Figura 11B). No
632 sistema protegido os incrementos foram de 33% e 34%, respectivamente e no sistema não
633 protegido de 59% e 34%, respectivamente em relação ao controle.

634 Para o índice de clorofila, todos os tratamentos no sistema protegido ocasionaram
635 incrementos nas plantas de jambu, em relação a plantas não inoculadas. As melhores respostas
636 foram observadas em plantas inoculadas com *M. anisopliae* e *T. asperellum* (Figura 11C), com
637 aumentos de 55% e 52%, respectivamente. Para o sistema não protegido, semelhante ao
638 observado no sistema protegido, os tratamentos com *M. anisopliae* e *T. asperellum* ocasionaram
639 os maiores aumentos nessa variável, em relação ao controle (Figura 11C)

640 No sistema protegido, para a variável índice de robustez, apenas as plantas tratadas com
641 *B. bassiana* diferiram do controle (Figura 11D), com incremento de 31% (Figura 12). Não
642 houve diferença significativa entre os tratamentos no cultivo não protegido (Figura 11D).

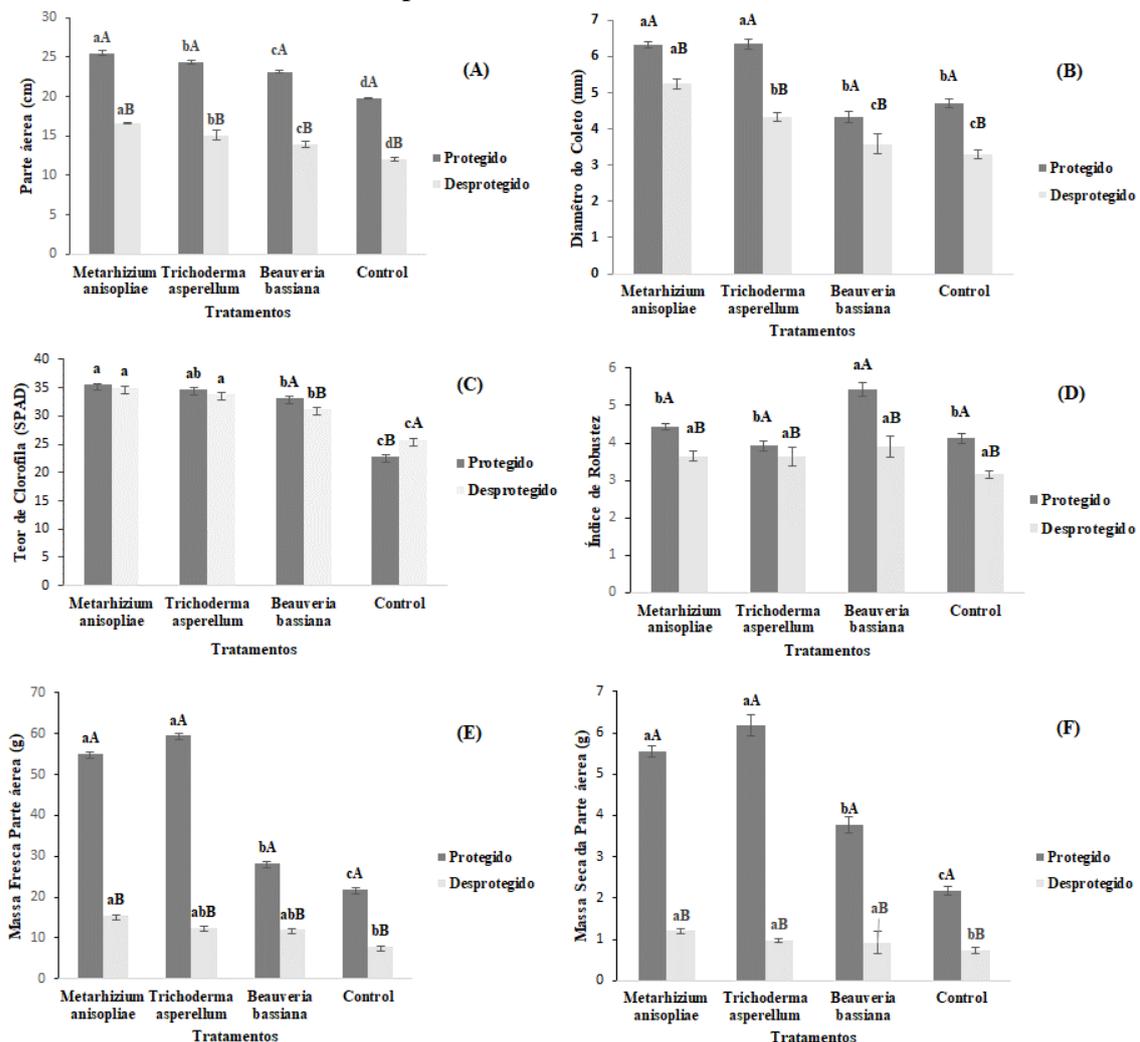
643 Com base nos resultados de biomassa, apresentados nas figuras 11E e F, observou-se
644 que para as variáveis massa seca e fresca da parte aérea, os incrementos foram em grandes

645 proporções no sistema protegido quando comparado ao não protegido, essa aumento foi de
646 244% para massa fresca e de 361% para massa seca da parte aérea.

647 As plantas de jambu que apresentaram maiores acúmulos de massa fresca na parte aérea
648 no sistema protegido (Figura 11E), foram às plantas inoculadas com *T. asperellum* e *M.*
649 *anisopliae*, esses incrementos foram de 172% e 150%, as médias foram de 59,52g e 55g
650 respectivamente, seguidos por *Beauveria* sp. que aumentou em 28% em relação ao
651 controle.(Figura 12). Para as respostas no sistema não protegido, o inoculante *M. anisopliae*
652 apresentou melhor acúmulo de massa fresca da parte aérea, entretanto os tratamentos com *T.*
653 *asperellum* e *B. bassiana*, apresentaram resultados positivos em relação ao controle. Esses
654 incrementos foram de 96% para *M. anisopliae*, 59% para *T. asperellum* e 52% para *B. bassiana*,
655 como evidenciados na figura 11E (Figura 12).

656

657 Figura 11. Altura (cm), diâmetro do coleto (mm), índice de clorofila (%), índice de robustez e
658 massa seca e fresca da parte área (g) de *Acmella oleracea*, após aplicação fungos
659 entomopatogênicos e promotor de crescimento, em sistema protegido e não protegido, no
660 período seco amazônico, município de Ananindeua, Pará, Brasil.



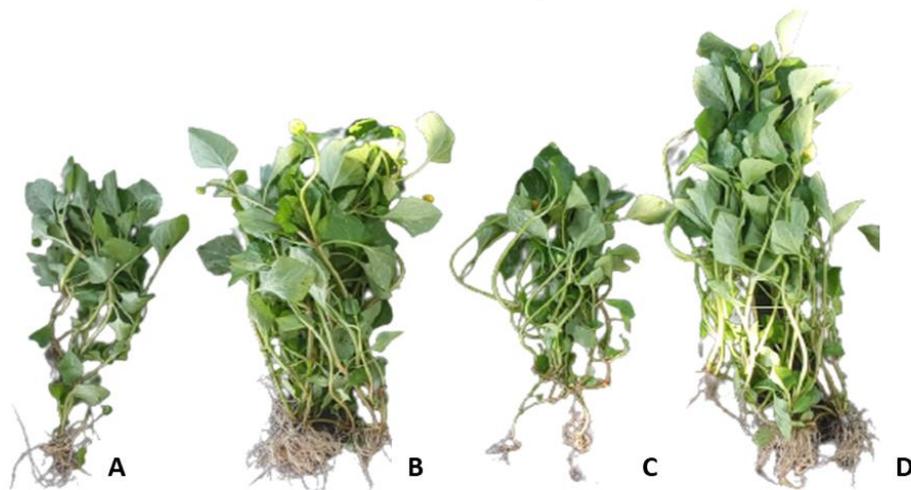
661

662 * Letra minúscula comparam médias em um mesmo sistema e letras maiúsculas comparam médias entre sistemas, pelo teste
 663 de Tukey a 5% de probabilidade de significância.
 664
 665

666 Para a massa seca da parte aérea no sistema protegido, os incrementos também foram
 667 observados nos tratamentos com aplicação de *T. asperellum* e *M. anisopliae*, com aumentos de
 668 184% e 156%, seguidos pelo tratamento com *B. bassiana* que incrementou em 73% essa
 669 variável, em relação ao controle. No sistema sem proteção, a inoculação de *M. anisopliae*
 670 também resultou em maior acúmulo de massa seca (Figura 11F), no qual esse incremento foi
 671 de 65%, seguido pelos tratamentos com *T. asperellum* com 35% e *B. bassiana* com 27%.

672

673 Figura 12. Plantas de *Acmella Oleracea*, inoculadas com microrganismos
 674 entomopatogênicos e promotor de crescimento em sistema de plantio
 675 protegido no período seco. a) Controle, b) *Trichoderma asperellum*, c)
 676 *Beauveria bassiana* e d) *Metarhizium anisopliae*



677 Fonte: Autor, 2021

678

679 As respostas fisiológicas obtidas por trocas gasosas, em plantas de jambu tratadas com
 680 isolados fúngicos, nos dois sistemas de plantio, no segundo ciclo de cultivo, são apresentadas
 681 na Figura 13. Houve diferença significativa entre os dois sistemas para quase todos os
 682 parâmetros avaliados, no qual o sistema protegido apresentou maiores aumentos em A , g_s e A/C_i
 683 . Em relação a C_i não houve diferença significativa quando comparados os sistemas de plantios
 684 (Figura 13).

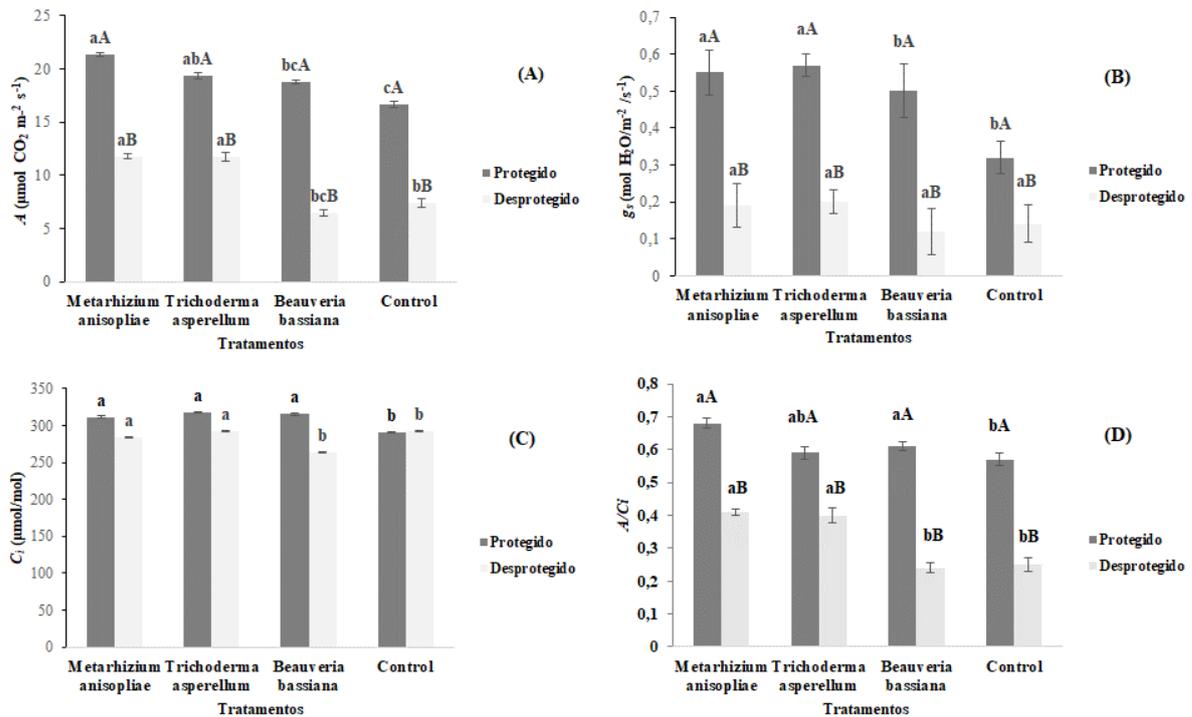
685 No sistema de plantio protegido, as plantas inoculadas com *M. anisopliae*, *T. asperellum*
 686 responderam positivamente em relação ao controle, e aumentaram a taxa de fotossíntese líquida
 687 em 28% e 16%. Para *B. bassiana* não houve diferença significativa nessa variável, quando
 688 comparado ao controle. Já para as respostas do sistema não protegido, o maior aumento
 689 observado foi em plantas inoculadas com *M. Anisopliae* (58%), seguido por *T. asperellum*

690 (56%), quando comparados ao controle (Figura 13A).

691 Para a condutância estomática (g_s) das plantas no sistema de plantio protegido, os
692 tratamentos que apresentaram maiores incrementos em relação ao controle foram *T. asperellum*
693 e *M. Anisopliae* (Figura 13B), que incrementaram 78% e 71%, respectivamente.

694

695 Figura 13. (a) Trocas gasosas: fotossíntese líquida (A - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (b) condutância
696 estomática (g_s - $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), (c) concentração interna de CO_2 (C_i - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) e (d)
697 eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i), após aplicação de fungos entomopatogênicos e
698 promotor de crescimento, em plantas de *Acmella oleracea*, em sistema protegido e não
699 protegido, no período seco amazônico, no município de Ananindeua, Pará, Brasil.



700

701 *Letras minúsculas comparam médias em um mesmo sistema e letras maiúsculas comparam médias entre sistemas, pelo
702 teste de Tukey a 5% de probabilidade de significância.

703

704 Em relação à concentração interna de CO_2 (C_i), as plantas cultivadas no sistema de
705 plantio protegido, todos os tratamentos diferiram do controle e incrementaram em média 8%,
706 em relação ao controle. Enquanto que, no sistema de plantio não protegido, os tratamentos
707 com *M. anisopliae* e *T. asperellum* diferiram do controle (Figura 13C).

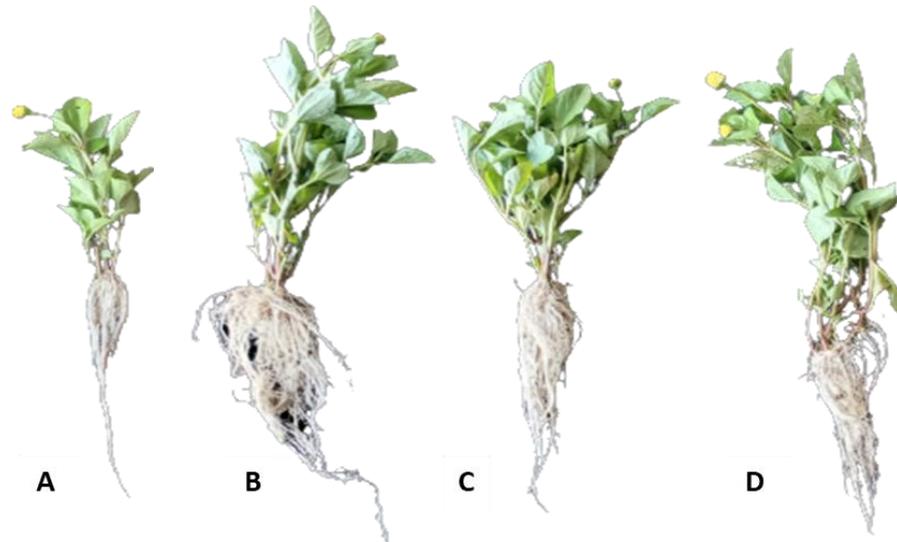
708

709 A eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i), no sistema de plantio protegido, apenas
710 as plantas inoculadas com *M. anisopliae*, diferiram do controle, com máxima A/C_i de 0,0068
711 (Figura 13D). Para o sistema de plantio não protegido os maiores aumentos nessa variável
712 foram observadas nas plantas inoculadas com *M. Anisopliae* e *T. asperellum* (Figura 13D),
sendo esses de 64% e 60%, respectivamente.

713

714

715 Figura 14. Plantas de *Acmella oleracea*, após aplicação de fungos
 716 entomopatogênicos e promotor de crescimento em sistema de plantio
 717 não protegido no período seco amazônico. a) Controle, b)
 718 *Trichoderma asperellum*, c) *Beauveria bassiana*, d) *Metarhizium*
 719 *anisopliae*



720 Fonte: Autor, 2021

721
 722
 723

4.DISCUSSÃO

724 Os resultados apresentados neste estudo sustentam a hipótese de que os fungos
 725 entomopatogênicos e o fungo *Trichoderma asperellum* promovem o crescimento de plantas de
 726 jambu submetidas ao sistema de cultivo suspenso e favorecem o melhor desempenho
 727 fotossintético, submetidas nos sistemas protegido e não protegido. A presente pesquisa
 728 evidenciou que o sistema que apresentou melhor crescimento, desenvolvimento e respostas
 729 fisiológicas, assim como as melhores respostas dos microrganismos avaliados foi protegido.

730 Os resultados apresentados neste estudo revelam que plantas de jambu inoculadas com
 731 os fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana*, em sistema protegido apresentam
 732 incremento nos parâmetros de crescimento e biomassa, assim como, melhor desempenho na
 733 atividade fotossintética, semelhante ao comportamento do fungo *T. asperellum* registrado em
 734 outros trabalhos, tradicionalmente, como promotor de crescimento (MAYO PIETRO et al.,
 735 2020; KUMAR, et al.,2021). Esses resultados são importantes, pois mostram que os fungos
 736 entomopatogênicos também podem ser registrados como fungos promotores do crescimento de
 737 plantas de jambu (bioestimulantes), além da vantagem de serem reconhecidos e utilizados
 738 mundialmente como biocontroladores de insetos. Nesse caso, possuem duas ações de extrema
 739 importância, no desenvolvimento e na proteção preventiva das plantas, pois durante os ensaios,
 740 não foi observado pragas, apesar da área comercial utilizada, ter histórico de presença de pragas

741 nas diferentes culturas cultivadas.

742 O jambu é uma cultura que exige clima quente e úmido, com temperaturas acima de 25
743 °C, solos bem drenados e com bom teor de matéria orgânica (MAPA, 2010). Acredita-se na
744 influência das condições climáticas sobre a cultura do jambu, o que possivelmente pode explicar
745 maior desenvolvimento das plantas em associação aos fungos no período chuvoso (SANTOS
746 et al., 2015). Nas condições do ensaio, observou-se, no período chuvoso, redução de
747 luminosidade, com maiores períodos de nebulosidade em virtude das constantes chuvas e
748 temperaturas em média 23 a 28°C, onde foi o período de maior precipitação, com média de 480
749 mm, além disso, a temperatura média de 25,5 °C, foi a mais baixa ao longo do ano, condições
750 altamente favoráveis a ação dos fungos. Já no período seco (setembro), houve ocorrência de
751 altas temperaturas 27-32°C e menor umidade, sendo o mês mais seco, com precipitação de 34
752 mm e temperatura média de 27,5°C, condições estas menos favoráveis ao desenvolvimento dos
753 fungos (INMET, 2021).

754 O trabalho demonstrou que plantas de jambu submetidas a pleno sol, no segundo ciclo
755 de cultivo, tiveram menor crescimento de acordo com os parâmetros de altura da parte aérea,
756 diâmetro do coleto e teor de clorofila, no entanto, mesmo com limitações de crescimento,
757 provavelmente devido às condições que a planta foi submetida, houve incremento de alguns
758 parâmetros avaliados, em plantas tratadas com os fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e
759 *B. bassiana* e com o promotor de crescimento *T. asperellum*. Desta forma, as melhores respostas
760 dos parâmetros avaliados em ambiente de cultivo protegido no primeiro ciclo de cultivo, sejam
761 provavelmente pelas condições climáticas do local, juntamente com a ação dos
762 microrganismos, porém foi possível observar também, respostas significativas em ambiente não
763 protegido, onde é possível que tenha sido evidenciado devido à maior ação dos microrganismos
764 sob a planta.

765 A promoção de crescimento de plantas também pode estar relacionada à produção de
766 substância de baixo peso molecular pertencentes a diferentes classes químicas como
767 policetídeos, alcaloides, terpenos e peptídeos não ribossomais (EMBRAPA, 2012). Os
768 compostos bioativos podem atuar como hormônios reguladores de crescimento,
769 antibacterianos, antibióticos, antifúngicos, antivirais, inseticidas, entre outros (ALY et al.,
770 2010). A utilização desses compostos bioativos na agricultura podem, também, influenciar no
771 crescimento vegetal (DAVITT et al., 2011) e atuar diretamente no hospedeiro, induzindo a
772 produção de compostos antagonistas aos patógenos, como as fitoalexinas que inibem a presença
773 de fitopatógenos ou promovendo alteração morfofisiológica na planta, como aumento da
774 espessura da parede celular e da cutícula (Polli et al., 2012)

775 Os resultados encontrados para jambu, demonstram a necessidade de se conhecer os
776 diferentes sistemas de cultivo da cultura, com o intuito de fortalecer a sua produtividade,
777 considerando-se que, cada espécie apresenta comportamento diferente sob condições a qual são
778 submetidas, tal fato pode ser constatado em trabalhos realizados com as culturas como
779 pimenteira (COSTA, 2017), alface (DIAMANTE, 2013; FERREIRA, 2009), tomateiro
780 (MAKISHIMA, 2018), rúcula (PINTO, 2014), chicória (SOUZA, 2018).

781 O microclima formado em ambiente protegido pela proteção do plástico favorece o
782 desenvolvimento das plantas de *A. oleraceae*, por ser uma espécie típica de clima tropical, o
783 cultivo bem-sucedido requer preferencialmente clima quente e úmido com temperaturas acima
784 de 25 °C (NASCIMENTO, 2019), não tolerando seca e baixas temperaturas, apresentando
785 crescimento prejudicado quando submetidas a condições de temperatura de 20 °C. Silva et al.,
786 (2020), observaram esse comportamento, principalmente no período chuvoso, pois aumenta o
787 influxo de CO₂ e reduz a transpiração das plantas (ARAÚJO et al., 2009; CARVALHO, 2015;
788 SOUZA, 2018).

789 Foram evidenciados que nos dois períodos e sistemas de plantio avaliados, os melhores
790 resultados apresentados foram pelos tratamentos inoculados com *M. anisopliae* e *T. asperellum*
791 como maior crescimento, biomassa e parâmetros fisiológicos, do que em plantas tratadas com
792 o fungo entomopatogênico *B. bassiana*. Resultados semelhantes foram obtidos por Siqueira, et.
793 al., (2020), que demonstraram que a colonização endofítica do tomateiro por *Metarhizium*.
794 *robertsii* e *Metarhizium humberi* incrementaram o crescimento da planta, evidenciado pelo
795 aumento na altura da planta, comprimento da raiz e peso seco da parte aérea e raízes em
796 comparação com as não inoculadas.

797 Foi evidenciado na pesquisa que o fungo entomopatogênico *B. bassiana* também
798 conseguiu promover o crescimento das plantas quando comparada ao tratamento controle, no
799 entanto essa promoção de crescimento foi inferior, as respostas observadas pelo tratamento com
800 o microrganismo *T. asperellum*. Destaca-se que alguns microrganismos, possuem mecanismo
801 de ação direta e indireta de promoção de crescimento, dentre esses mecanismos os mais
802 importantes são a aquisição de nutrientes e a produção de fitohormônios, enquanto a tolerância
803 a estresses bióticos e abióticos, incluindo o combate a patógenos, é considerado aspecto indireto
804 na promoção do crescimento (HARDOIM et al., 2015; SOUZA; DOS SANTOS 2017).

805 Os benefícios diretos da interação com fungos endofíticos incluem o aumento na
806 aquisição de nutrientes e na quantidade de fitohormônios na planta, esses benefícios estão
807 diretamente relacionados ao aumento da produção de biomassa, desenvolvimento do sistema
808 radicular, altura da planta, reprodução de peso e produtividade. Devido a esses benefícios, eles

809 podem ser chamados de biofertilizantes (BAMISILE et al. 2018), ou bioinsumos promotores
810 de crescimento.

811 Pesquisas relataram que, os fungos *M. humberi*, *M. robertsii* e *M. anisopliae*
812 estimularam o crescimento das plantas pela produção de fitases, sideróforos e ácidos orgânicos
813 que aumentam a disponibilidade de nutrientes do solo (SHUKLA; VYAS2014; SIQUEIRA et
814 al., 2020).

815 Semelhante aos resultados encontrados no presente trabalho, Farias et al. (2018)
816 testaram a inoculação de *Purpeorocillium lilacinum* em consórcio com mais quatro fungos, *B.*
817 *bassiana*, *M. anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia* e *T. asperellum* e obtiveram resultados
818 positivos na avaliação de parâmetros de promoção de crescimento em plantas de soja e milho,
819 entretanto, o teste em consórcio dificultou a determinação de qual microrganismo de fato
820 contribuiu para o crescimento das plantas. Os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e
821 *Metarhizium spp.* já foram relatados como inoculantes de plantas que atuam no crescimento das
822 plantas, em culturas como tomate, feijão, mandioca e milho (GARCIA et al., 2011; SASAN;
823 BIDOCHKA, 2012; LIAO et al., 2014; JABER; ENKERLI, 2016, 2017; TALL; MEYLING,
824 2018) levando a maiores rendimentos (LOPEZ; SWORD, 2015; GATHAGE et al., 2016;
825 JABER; ARAJ, 2018).

826 As respostas de trocas gasosas obtidas com a pesquisa demonstraram que os
827 microrganismos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *T. asperellum* foram capazes de aumentar a
828 fotossíntese líquida, condutância estomática, concentração intercelular de CO₂ e eficiência
829 instantânea de carboxilação, principalmente no primeiro ciclo de cultivo. No entanto, no
830 segundo ciclo de cultivo, também ocorreu aumento desses parâmetros. Os incrementos mais
831 relevantes foram evidenciados no sistema de cultivo protegido, nos dois ciclos. Esse aumento
832 pode beneficiar a planta, pois o acréscimo desses parâmetros favorece a absorção de nutrientes
833 minerais e microelementos (CHO et al., 2008). Assim como, ocorre a elevação na produção de
834 fotoassimilados que são destinados à formação de tecidos na planta, correlacionando
835 positivamente a fotossíntese com produção de biomassa. (LEMOS NETO, 2015).

836 Uma maior taxa fotossintética líquida pode ser considerada como uma forma de suportar
837 a alta demanda energética, o que pode alterar substancialmente o rendimento fotossintético,
838 bem como outras variáveis como a condutância estomática (CENTRITTO et al., 2009).

839 Resultados semelhantes também foram encontrados por Hwang et al. (2011), onde as
840 plantas tratadas com filtrados de culturas fúngicas (FCF) de fungos endofíticos na promoção de
841 crescimento, teve maior taxa fotossintética líquida (*A*), taxa de transpiração (*E*), eficiência de
842 carboxilação (*A/C_i*) e eficiência de uso da água (*WUE*, *A/E*) do que as dos controles, que foram

843 mais proeminentes em plantas injetadas com FCF do que em plantas pulverizadas com FCF.
844 Esses autores observaram que, em plantas injetadas com FCF, os valores médios de A , E , A/C_i
845 e WUE aumentaram em 89%, 27%, 90% e 84%, respectivamente. Hormônios vegetais
846 produzidos por endófitos podem afetar as vias metabólicas na planta e serem responsáveis por
847 mudanças na fotossíntese líquida e na condutância estomática (SPIERING; GREER; SCHMID,
848 2006).

849 Comumente, o incremento nos valores de C_i é acompanhado de acréscimos na g_s ; deste
850 modo, a limitação da abertura estomática seria o fator principal do menor desempenho
851 fotossintético, uma vez que, quanto maior a abertura estomática maior a difusão de CO_2 para a
852 câmara subestomática (AUGÉ et al., 2015). É provável que os microrganismos atuem em uma
853 maior abertura estomática (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2022). A eficiência de carboxilação,
854 nos dois sistemas de plantio avaliados, foi reduzida para a maioria dos tratamentos, indicando
855 baixa eficiência de carboxilação, ou seja, o quanto de CO_2 foi utilizado no processo de
856 fotossíntese (KONRAD, et al., 2005)

857 O uso de fungos benéficos como os avaliados na presente pesquisa, pode ser importante
858 para melhorar os parâmetros de trocas gasosas da planta, além de ser muito vantajoso para o
859 desenvolvimento das plantas de jambu. Mesmo em condições climáticas e sistema de plantio
860 não favoráveis ao desenvolvimento satisfatório das planta, os microrganismos testados
861 conseguiram, em alguns parâmetros avaliados, aumentar a taxa de transpiração do jambu, assim
862 como outros parâmetros fotosintéticos. Assim, esse estudo é o pioneiro em demonstrar que os
863 fungos *M. anisopliae*, *T. asperellum* e *B. bassiana* são capazes de promover significativamente
864 à promoção do crescimento em plantas de jambu, principalmente em períodos de condições
865 climáticas em que a planta possa responder melhor, bem como o tipo de sistema de plantio mais
866 adequado a cultura.

867

868 **5. CONCLUSÕES**

869

870 - Aplicações dos fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana* favorecem a
871 promoção de crescimento por incrementar os parâmetros biométricos e fisiológicos de plantas
872 de *A. oleracea*, assim como o promotor de crescimento *T. asperellum*. Entretanto o fungo *M.*
873 *ansiopliae*, apresentou melhor desempenho, semelhante ao *T.asperellum*, principalmente no
874 sistema de cultivo protegido e no período chuvoso;

875

876 - O melhor desenvolvimento das plantas de *A. oleracea* ocorre no período chuvoso, no
877 sistema protegido e suspenso, e as aplicações de fungos entomopatogênicos e do *T. asperellum*
878 favoreceram a diminuição do ciclo da planta e podem antecipar a colheita em cinco dias;

879

880 - Os microrganismos entomopatogênicos e o *T. asperellum* são promissores na
881 promoção do crescimento, com ação nos parâmetros biométricos e fisiológicos, o que
882 demonstra alternativa viável e ecologicamente correta para uso na cultura de *A. oleracea*, em
883 áreas comerciais da agricultura periurbana.

884

885 6. REFERÊNCIAS

886

887 KONRAD, M. L. F. et al. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de
888 cafeeiro sob estresse de alumínio. *Bragantia*, Campinas, v. 64, n. 3, p. 339-347, Jul./Set. 2005.

889

890 ALY AH, DEBBAB A, PROKSCH P. Endófitos fúngicos: habitantes de plantas únicos com
891 grandes promessas. *Appl Microbiol Biotechnol*. 90(6):1829-1845. 2011. doi:10.1007/s00253-
892 011-3270-]

893

894 ARAÚJO NETO, S. E. de; FERREIRA, R. L. F.; PONTES, F. S. T. Rentabilidade da produção
895 orgânica de cultivares de alface com diferentes preparos do solo e ambiente de cultivo. *Ciência*
896 **Rural**, Santa Maria, RS, v. 39, n. 5, p. 1362-1368, ago. 2009.

897

898 AUGÉ RM, TOLER HD, SAXTON AM. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal
899 conductance of host plants more under drought than. 2015

900

901 BAMISILE BS, DASH CK, AKUTSE KS, KEPPANAN R, WANG LD. Endófitos fúngicos:
902 além do manejo de herbívoros. *Microbiol*. 2018

903

904 BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical test. *Proceedings of the Royal*
905 **Society of London**, London, v. 160, n. 901, p. 268-282, May 1937.

906

907 BARTLETT, M.S. (1937) Properties of Sufficiency and Statistical Test. *Proceedings of the*
908 *Royal Society A*, 160, 268-282. <https://doi.org/10.1098/rspa.1937.0109>.

909

910 BENNEKOU, S.H. Caminhando em direção a uma abordagem holística para avaliação de
911 riscos à saúde humana – A abordagem atual é adequada para o propósito? *EFSA J*. 17:e170711.
912 2019. doi: 10.2903/

913

914 BILLS, GF, POLISHOOK, JD. Microfungos de *Carpinus caroliniana*. *Posso. J. Bot.* 69, 1477-
915 1482. 1991.

916

917 BRASIL. **Manual de hortaliças não-Convencionais**. Brasília: Mapa/ ACS, 2010. 92 p.

918

919 CARVALHO, C. A. C. Impacto do estresse térmico e de co2 no crescimento inicial e na

- 920 fisiologia do meloeiro. 2015. 142 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Universidade Federal do
921 Semi-Árido, Mossoró, RN, 2015.
- 922
- 923 COSTA, E.; SANTO, T. L. E.; BATISTA, T. B.; CURI, T. M. R. C. Diferentes tipos de
924 ambiente protegido e substratos na produção de pimenteiras. **Horticultura Brasileira**, Brasília,
925 DF, v. 35, n. 3, p. 458-466, jul./set. 2017.
- 926
- 927 DAVITT, A. J., CHEN, C., RUDGERS, J. A. Understanding context-dependency in plant–
928 microbe symbiosis: The influence of abiotic and biotic contexts on host fitness and the rate of
929 symbiont transmission. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, p. 137-145. 2011
- 930
- 931 DIAMANTE, M. S.; JÚNIOR, S. S.; INAGAKI, A. M.; SILVA, M. B.; DALLACORT, R.
932 Produção e resistência ao pendoamento de alface tipo lisa cultivadas sob diferentes ambientes.
933 **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 1, p. 133-140, jan./mar, 2013.
- 934
- 935 EMBRAPA. Fungos Endofíticos: perspectiva de descoberta e aplicação de compostos bioativos
936 na agricultura. 2012 - Portal Embrapa. Disponível em <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/951754/fungos-endofiticos-perspectiva-de-descoberta-e-aplicacao-de-compostos-bioativos-na-agricultura>> Acesso em 10 de fevereiro de 2022.
- 937
- 938
- 939
- 940 FERREIRA, R. L. F.; ARAÚJO NETO, S. E. de; SILVA, S. S.; ABUD, E. A.; REZENDE, M.
941 I. F. L.; KUSDRA, J. F. Combinações entre cultivares, ambientes, preparo e cobertura do solo
942 nas características agronômicas de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 3, p.
943 383-388, jul./set. 2009.
- 944
- 945 GARCÍA, J. E. et al. *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin Promotes Growth and
946 Has Endophytic Activity in Tomato Plants. **Advances in Biological Research**, v. 5, n. 1, p. 22–
947 27, 2011.
- 948
- 949 GATHAGE, JW, LAGAT, ZO, FIABOE, KKM, AKUTSE, KS, EKESI, S., MANIANIA, NK.
950 Perspectivas de endófitos fúngicos no controle da *mosca minadora Liriomyza* em feijoeiro
951 *Phaseolus vulgaris* em condições de campo. **BioControl** 61, 741-753. 2016.
- 952
- 953
- 954 GRUBBS, F.E. Procedures for Detecting Outlying Observations in Samples. *Technometrics*,
955 11, 1-21. 1996. <http://dx.doi.org/10.1080/00401706.1969.10490657>
- 956
- 957 GUSMÃO S. A. L.; GUSMÃO M. T. A.; SILVESTRE W. V. D.; LOPES P. R. A.
958 caracterização do cultivo de Jambu nas áreas produtoras que abastecem a grande Belém. In:
959 CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 49, 2009, Águas de Lindóia.
960 **Resumos...** Águas de Lindóia: CBO, 2009. Versão eletrônica.
- 961
- 962 GUSMÃO, M. T. A.; GUSMÃO, S. A. L. **Jambu da Amazônia: *Acmella oleracea* [(L.) R.
963 K. Jansen]: características gerais, cultivo convencional, orgânico e hidropônico**. Belém:
964 Edufra, 2013. 135 p.
- 965
- 966 HARDOIM PR, OVERBEEK LSV, BERG G, ET AL. The hidden world within plants:
967 ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes.
968 *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 79: 293-320. 2015
- 969

- 970 HOMMA, A. K. O. **Extrativismo vegetal na Amazônia: história, ecologia, economia e**
971 **domesticação**. In: HOMMA, A. K. O.; SANCHES, R. S.; MENEZES, A. J. E. A.; GUSMÃO,
972 S. A. L. (ed.). Etnocultivo do jambu para abastecimento da cidade de Belém, no Estado do Pará.
973 Brasília, DF:Embrapa, 2014. p. 329-343
974
- 975 HWANG GJ, SHI YR, CHU HC: A concept map approach to developing collaborative
976 Mindtools for context-aware ubiquitous learning. **Br. J. Educ. Technol.** 2011,42(5):778–789.
977 10.1111/j.1467-8535.2010.01102.x
978
- 979 HYDE, K.D.; SOYTONG, K. The fungal endophyte dilemma. **Fungal Diversity**, v. 33, p. 163-
980 173, 2008.
981
- 982 INMET Available at: [https:// portal.inmet.gov.br/](https://portal.inmet.gov.br/). Accessed Dec. 18, 2021.
983
- 984 KHAN, A.L.; HAMAYUN, M.; AHMAD, N.; HUSSAIN, J.; KANG, S.M.; KIM, Y.H.;
985 ADNAN, M.; TANG, D.S.; WAQAS, M.; RADHAKRISHNAN, R.; HWANG, Y.H.; LEE, I.J.
986 Salinity Stress Resistance Offered by Endophytic Fungal Interaction Between *Penicillium*
987 *minioluteum* LHL09 and *Glycine max.* L. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21,
988 p. 893–902, 2011. DOI: 10.4014/jmb.1103.03012
989
- 990 JABER, L. R.; ENKERLI, J. Effect of seed treatment duration on growth and colonization of
991 *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. **Biological Control**,
992 v. 103, p. 187–195, 2016.
993
- 994 JABER, L. R.; ENKERLI, J. Fungal entomopathogens as endophytes: can they promote plant
995 growth? **Biocontrol Science and Technology**, v. 27, n. 1, p. 28–41, 2017.
996
- 997 JABER, L.R.; ARAJ, S.E.; QASEM, J.R. Compatibility of endophytic fungal entomopathogens
998 with plant extracts for the management of sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius
999 (Homoptera: Aleyrodidae), **Biological Control**, Orlando, Volume 117, Pages 164-171, 2018.
1000
- 1001 KHAN, A.L.; HAMAYUN, M; KHAN, S.A., KANG, S.; SHINWARI, Z.K.; KAMRAN, M.;
1002 REHMAN, S.; KIM, J.; LEE, I. Pure culture of *Metarhizium anisopliae* LHL07 reprograms
1003 soybean to higher growth and mitigates salt stress. **World Journal of Microbiology and**
1004 **Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1483-1494, 2012.
1005
- 1006 KONRAD, M. L. F. et al. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de
1007 cafeeiro sob estresse de alumínio. **Bragantia, Campinas**, v. 64, n. 3, p. 339-347, Jul./Set. 2005.
1008
- 1009 KUMAR, K., MHETRE, A., RATNAPARKHI, G.S., KAMAT, S.S. A Superfamily-wide
1010 Activity Atlas of Serine Hydrolases in *Drosophila melanogaster*. **Biochemistry** 60(16): 1312-
1011 -1324.2021.
1012
- 1013 LACEY, L. et al. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal**
1014 **of invertebrate pathology**, Amsterdam, v. 132, p. 1-41, Nov. 2015. DOI:
1015 [10.1016/j.jip.2015.07.009](https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009).
1016
- 1017 LEMOS NETO, H.S.; GUIMARÃES, M. A.; TELLO, J. P. J.; MESQUITA, R. O.; VALE, J. C.; LIMA
1018 NETO, B. P. Perfomace produtivo e fisiológico de cultivares de alface em diferentes densidades de
1019 plantio no Semiárido brasileiro. **African Journal of Agricultural**, v.12, p. 771-779. 2017.

- 1020
1021 LIAO, X. et al. Overexpression of a *Metarhizium robertsii* HSP25 gene increases
1022 thermotolerance and survival in soil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 2,
1023 p. 777–783, 2014
1024
- 1025 LOPEZ, D. C.; SWORD, G. A. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana*
1026 and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*)
1027 and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). **Biological Control**,
1028 v. 89, p. 53–60, 2015.
1029
- 1030 LOPEZ-LLORCA, L. V. et al. Nematophagous fungi as root endophytes. In: SCHULZ, B. J.
1031 E.; BOYLE, C. J. C.; SIEBER, T. N. (Ed.). **Microbial root endophytes**. Berlin:
1032 SpringerVerlag, p. 191-206. 2006. DOI: 10.1007/3-540-33526-9_11.
1033
- 1034 LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. **Nova Odessa:**
1035 **Plantarum**, 2002. 512p.
1036
- 1037 LUCON, C. M. M. Trichoderma: o que é, para que serve e como usar corretamente na lavoura.
1038 São Paulo: **Instituto Biológico**, 2014. 35 p.
- 1039 MAKISHIMA, N., MELO, W. F., CARRIJO, O. A. Comparação de quatro tipos de substratos
1040 para o cultivo de tomateiros em casa-de-vegetação. Disponível
1041 em:http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/download/biblioteca/44_560.pdf
1042 Acesso em: 14 de abril de 2018.
1043
- 1044 Mayo Pietro, S., Campelo, M. P., Lorenzana, A., Rodríguez González, A., Reinoso, B.,
1045 Gutiérrez, S. & Casquero, P. A. Antifungal activity and bean growth promotion of Trichoderma
1046 strains isolated from seed vs soil. **European Journal of Plant Pathology**, 158, 817-828. 2020.
1047
- 1048 MAUÉS, THAMIRES MONTEIRO SILVA ; DA SILVA COSTA, RAFAEL RODRIGO ;
1049 DOS SANTOS, MARCOS ANTÔNIO SOUZA ; da Silva, Gisele Barata . Agro-economic
1050 performance of banana tree under nutritional management with Trichoderma asperellum, in a
1051 family production system. **AIMS AGRICULTURE AND FOOD** , v. 7, p. 297-311, 2022.
1052
1053
- 1054 MEYLING, N. V.; THORUP-KRISTENSEN, K.; EILENBERG, J. Below- and aboveground
1055 abundance and distribution of fungal entomopathogens in experimental conventional and
1056 organic cropping systems. **Biological Control**, v. 59, n. 2, p. 180–186, 2011.
1057
- 1058 NASCIMENTO, L. E. S. **Jambu (Acmella oleracea (L .) R . K . Jansen) hidropônico e**
1059 **convencional: uma comparação baseada nas propriedades físico-químicas e composição**
1060 **fotoquímica**. Orientadora: Renata Amboni. 2019. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciência
1061 dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.
- 1062 NEVES, J. F. *et al.* Cultivo de jambu em campo aberto sob telas de sombreamento e
1063 termorefletoras. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 926–933, 2013.
1064
- 1065 NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H. B.; TUNLID, A. Nematophagous fungi. In:
1066 **ENCYCLOPEDIA of life sciences**. Hoboken: John Wileyand Sons, 2006. p. 1-11. DOI:
1067 [10.1038/npg.els.0004293](https://doi.org/10.1038/npg.els.0004293).

- 1068
1069 PINTO, G. P. Cultivo orgânico de rúcula em diferentes ambientes, volumes e concentrações de
1070 composto nos substratos. 2014. 48 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Centro de
1071 Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC, 2014.
1072
- 1073 POLLI, ANDERSON et al. Aspectos da interação dos microrganismos endofíticos com plantas
1074 hospedeiras e sua aplicação no controle biológico de pragas na agricultura. **SaBios-Revista de**
1075 **Saúde e Biologia**, v. 7, n. 2, 2012.
1076
- 1077 POLTRONIERI, M.C.; MULLER, N. R. M.; POLTRONIERI, L. S. Recomendações para a
1078 produção de jambu: cultivar Nazaré. **Belém: Embrapa Amazônia Oriental**, 2010. 13 p.
1079 (Circular Técnica, 11).
1080
- 1081 SAMPAIO, ITALO MG et al. Productive and physiological responses of jambu (*Acmella*
1082 *oleracea*) under nutrient concentrations in nutrient solution. **Horticultura Brasileira [online]**.
1083 2021, v. 39, n. 1 [Accessed 18 August 2022] , pp. 65-71. Available from:
1084 <<https://doi.org/10.1590/s0102-0536-20210110>>. Epub 29 Mar 2021. ISSN 1806-9991.
1085 <https://doi.org/10.1590/s0102-0536-20210110>.
1086
- 1087 SANTOS, E. R.; GENTIL, D. F. O. Propagação de jambu por estaquia. **Comunicata Scientiae**,
1088 Bom Jesus, v.6, n.1, p. 26-32, jan./mar. 2015.
1089
- 1090 SASAN, R. K.; BIDOCHKA, M. J. Antagonism of the endophytic insect pathogenic fungus
1091 *Metarhizium robertsii* against the bean plant pathogen *Fusarium solani* f. sp. phaseoli.
1092 **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 35, n. 3, p. 288–293, 2013.
1093
- 1094 SHAPIRO, S. S., AND M. B. WILK. “An Analysis of Variance Test for Normality (Complete
1095 Samples).” *Biometrika*, vol. 52, no. 3/4, 1965, pp. 591–611. JSTOR,
1096 <https://doi.org/10.2307/2333709>. Accessed 19 Aug. 2022.
1097
- 1098 SILVA, L. C.; SAMPAIO, I. M. G.; BITTENCOURT, R. F. P. M.; ARAUJO, M. R.;
1099 FIGUEIREDO, S. P. R.; GUSMÃO, S. A. L.; COSTA, A. S. Influence of temperature on the
1100 germination and root size of *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen. **Revista Agro@ambiente**
1101 **Online**, v. 14, p. 1-10, 2020.
1102
- 1103 SIQUEIRA, A. C. O. et al. Multi-Trait Biochemical Features of *Metarhizium* Species and Their
1104 Activities That Stimulate the Growth of Tomato Plants. **Frontiers in Sustainable Food Systems**,
1105 v. 4, n. September, p. 1–15, 2020.
1106
- 1107 SOUZA JL. 1998. Agricultura orgânica. Vitória, EM CAPA, p.176
1108
- 1109 SOUZA, B.S. and SANTOS, T.T. Endophytic fungi in economically important plants:
1110 ecological aspects, diversity and potential biotechnological applications. **Journal of Bioenergy**
1111 **and Food Science**, vol. 4, no. 2, pp. 113-126. 2017. <http://dx.doi.org/10.18067/jbfs.v4i2.121>.
- 1112 SOUSA, THATYANE PEREIRA ; CHAIBUB, AMANDA ABDALLAH ; CORTES,
1113 MARCIO VINICIUS DE CARVALHO BARROS ; BATISTA, TELMA FÁTIMA COELHO
1114 ; BEZERRA, GUSTAVO DE ANDRADE ; da Silva, Gisele Barata ; DE FILIPPI, MARTA
1115 CRISTINA CORSI . Molecular identification of *Trichoderma* sp. isolates and biochemical

- 1116 characterization of antagonistic interaction against rice blast. ARCHIVES OF
1117 MICROBIOLOGY , v. xx, p. xx-xx, 2021.
- 1118 SOUZA, L. G. S. Rendimento de chicória da Amazônia em ambientes de cultivos, com mudas
1119 produzidas em substratos constituídos de resíduos. 2018 51 f. Dissertação (Mestrado em
1120 Produção Vegetal) – Centro de ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do
1121 Acre, Rio Branco, 2018.
1122
- 1123 SILVA, I. F. *et al.* Teor de clorofila e produtividade do jambu sob cultivo hidropônico e solo
1124 em diferentes períodos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 4, p.386–
1125 394, 2020.
1126
- 1127 SPIERING, MJ; GREER, DH, E SCHMID, J. Os efeitos do endófito fúngico, *Neotyphodium*
1128 *lolii*, na fotossíntese líquida e nas taxas de crescimento do azevém perene (*Lolium perenne*) são
1129 independentes da concentração do endófito In Planta. **Annals of Botany**, 98, 379-387. 2006
1130
- 1131 SPOLAOR, L. T., et al. Bactérias promotoras de crescimento associadas a adubação
1132 nitrogenada de cobertura no desempenho agrônomo de milho pipoca. **Bragantia**, 75 (1), 33-
1133 40. DOI: 10.1590/1678-4499.330. 2016.
1134
- 1135 STROBEL, G.; DAISY, B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products.
1136 **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, n. 4, p. 491-502, 2003. DOI:
1137 10.1128/MMBR.67.4.491-502.2003
1138
- 1139 TALL, S.; MEYLING, N. V. Probiotics for Plants? Growth Promotion by the
1140 Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* Depends on Nutrient Availability. **Microbial**
1141 **Ecology**, v. 76, n. 4, p. 1002–1008, 2018.
1142
- 1143 VEGA, FE. Patologia de insetos e fungos endofíticos. *J. Invertebr. Patol.* 98, 277-279. 2008.
1144
- 1145 VEGA, FE, 2018. O uso de entomopatógenos fúngicos como endófitos em biologia controle:
1146 uma revisão. **Micologia** 110, 4-30.
1147
1148
1149

1150 **POTENCIAL DE MICRORGANISMOS COMO SOLUBILIZADORES DE FOSFATO,**
1151 **PRODUÇÃO DE AIA, CLOROFILA E CARBOIDRATOS EM PLANTAS DE *Acmella***
1152 ***oleraceae***

1153

1154 **RESUMO**

1155 Plantas de *A. oleracea*, são muito requeridas na alimentação humana, tipicamente na culinária
1156 Amazônica, em cosméticos, bebidas, chás, farmacêuticos, controle de pragas, entre outros usos. A
1157 aplicação de métodos de produção agrícola mais sustentáveis, de menor impacto ao meio ambiente, e
1158 que preserve da saúde do consumidor, com alimentos mais saudáveis sem resíduos tóxicos, vem sendo
1159 muito debatido entre pesquisadores e tem sido muito exigido pela sociedade. Desse modo a busca e
1160 aplicação de produtos à base de microrganismos, tem sido, cada vez mais utilizado atualmente. Assim,
1161 objetivou-se quantificar a clorofila *a* e *b*, carboidratos, solubilização de fosfato e síntese de AIA, após
1162 inoculação dos fungos entomopatogenicos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, e do promotor
1163 de crescimento *Trichoderma asperellum*. O experimento “*in vivo*” foi conduzidos em área comercial de
1164 agricultura periurbana no município de Ananindeua, Pará, em canteiros suspenso, em campo, protegido
1165 com filme plástico difusor de 100 micras. Os testes *in vitro* foram realizados no Laboratório de Proteção
1166 de Plantas, pertencente a Universidade Federal Rural da Amazônia. Foram utilizados três inoculantes:
1167 *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Pool T. asperellum* (Isolados UFRA T06, UFRA T09, UFRA T12, UFRA
1168 T52) e tratamento controle, com o uso de água potável. Os dados de clorofila *a* e *b*, carboidrato,
1169 solubilização de fosfato e produção de AIA, foram examinadas pelo teste F ($P \leq 0.05$). Os resultados
1170 obtidos, demonstraram que a aplicação dos fungos entomopatogênicos e do promotor de crescimento,
1171 em plantas de jambu, induziram incrementos nos teores de clorofilas, sendo o maior promovido por *T.*
1172 *asperellum*. As plantas bioestimuladas apresentaram diferentes respostas nas concentrações de sacarose,
1173 frutose e glicose, em relação às plantas controle. Na solubilização de fosfato, todos os isolados
1174 demonstraram crescimento micelial em meio NBRIP modificado e produziram AIA no meio de cultura
1175 FAN suplementado com L-triptofano, em resposta a síntese de ácido indol acético (AIA), quando
1176 comparados ao controle. Conclui-se que os fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *T. asperellum*, são
1177 capazes de incrementar a clorofila, sacarose, solubilizar fosfato e produzir AIA em plantas de jambu *A.*
1178 *oleracea*.

1179

1180 **PALAVRAS-CHAVE:** Sustentáveis; Plantas bioestimuladas; Sacarose; Síntese de AIA;
1181 Solubilização de fosfato.

1182

1183

1184

1185

1186 **ABSTRACT**

1187 *A. oleracea* plants are in great demand in human nutrition, typically in Amazonian cuisine,
1188 cosmetics, beverages, teas, pharmaceuticals, pest control, among other uses. The application of
1189 more sustainable agricultural production methods, with less impact on the environment, and
1190 which preserve consumer health, with healthier food without toxic residues, has been much
1191 debated among researchers and has been much demanded by society. In this way, the search for
1192 and application of products based on microorganisms has been increasingly used today. The
1193 aim was to quantify chlorophyll a and b, carbohydrates, phosphate solubilization and AIA
1194 synthesis after inoculation with the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and
1195 *Beauveria bassiana*, and the growth promoter *Trichoderma asperellum*. The "in vivo"
1196 experiment was conducted in a commercial area of peri-urban agriculture in the municipality
1197 of Ananindeua, Pará, in suspended beds, in the field, protected with 100-micron diffuser plastic
1198 film. The *in vitro* tests were carried out at the Plant Protection Laboratory at the Federal Rural
1199 University of Amazonia. Three inoculants were used: *B. bassiana*, *M. anisopliae*, Pool *T.*
1200 *asperellum* (Isolates UFRA T06, UFRA T09, UFRA T12, UFRA T52) and control treatment,
1201 using drinking water. The data on chlorophyll a and b, carbohydrate, phosphate solubilization
1202 and AIA production were examined using the F test ($P \leq 0.05$). The results obtained showed
1203 that the application of entomopathogenic fungi and the growth promoter to jambu plants
1204 induced increases in chlorophyll levels, the greatest of which was promoted by *T. asperellum*.
1205 The biostimulated plants showed different responses in terms of sucrose, fructose and glucose
1206 concentrations compared to the control plants. In phytate solubilization, all the isolates showed
1207 mycelial growth in a modified NBRIP medium and produced AIA in FAN culture medium
1208 supplemented with L-tryptophan, in response to the synthesis of indole acetic acid (AIA), when
1209 compared to the control. It is concluded that the fungi *B. bassiana*, *M. anisopliae*, and *T.*
1210 *asperellum* are able to increase chlorophyll, and sucrose, solubilize phosphate, and produce
1211 AIA in *A. oleracea* jambu plants.

1212

1213 **KEYWORDS:** Sustainable; Biostimulated plants; Sucrose; AIA synthesis; Phosphate
1214 solubilization.

1215

1216

1217

1218

1219

1220 **INTRODUÇÃO**

1221 *Acmella oleracea* (L.) R. K Jansen, atualmente é uma espécie utilizada com frequência
1222 em todo o mundo para alimentação, cosméticos, bebidas, chás, farmacêuticos e fins de controle
1223 de pragas. Esta planta contém ampla gama de metabólitos secundários, com características
1224 semelhantes a produtos da indústria química, como a atividade larvicida (SIMAS et al., 2013),
1225 atividade inseticida (MORENO et al., 2012) e ação controladora sobre carrapatos (OLIVEIRA
1226 et al., 2016). Devido a essas características da espécie, maior interesse por produtores e
1227 pesquisadores vem sendo despertado nos últimos anos, com foco em pesquisas que promovam
1228 aumento da eficiência produtiva da cultura com ênfase em manejo mais sustentável.

1229 Produtos químicos, sintéticos e fertilizantes minerais são criticados por efeitos
1230 potencialmente negativos na saúde humana (BENNEKOU, 2019) e/ou no meio ambiente
1231 (NORSE, 2005; HUANG et al., 2017), incluindo o esgotamento de recursos não renováveis
1232 (CHOJNACKA et al., 2020) e o impacto negativo na biodiversidade (MOZUMDER &
1233 BERRENS, 2007; SÁNCHEZ- BAYO & WYCKHUYS, 2019). Devido a essas preocupações,
1234 a aplicação de métodos de produção agrícola sustentável vem sendo exigido por consumidores,
1235 bem como por disposições legais (MARRONE, 2019). Nesse contexto, embora não se espere
1236 que pesticidas ou fertilizantes a base de microrganismos substituam totalmente o uso de
1237 pesticidas químicos e fertilizantes minerais, eles podem desempenhar um papel cada vez maior
1238 e sua aplicação em práticas agrícolas em todo o mundo (ALABOUVETTE et al., 2012; KUREK
1239 & OZIMEK, 2013).

1240 Fungos entomopatogênicos (FE) têm sido estudados tradicionalmente no controle de
1241 insetos, no entanto, recentemente despertou interesse nas pesquisas, seu papel como endófitos
1242 de plantas na natureza. Esses fungos foram isolados de várias espécies de plantas como
1243 endófitos naturais e foram inoculados experimentalmente em muitas plantas hospedeiras para
1244 avaliar seus papéis potenciais na proteção de plantas (VEGA, 2008). Há evidências crescentes
1245 de que esses FE têm efeitos como promotores de crescimento vegetal, e contra patógenos de
1246 plantas e pragas de artrópodes (VEGA et al. 2009; JABER & ENKERLI, 2017; JABER &
1247 OWNLEY, 2018; BARRA-BUCAREI et al. 2020).

1248 Os mecanismos de promoção de crescimento vegetal por microrganismos do solo, como
1249 o *Trichoderma sp.*, podem ser diretos e indiretos. Os diretos podem ser devidos a produção de
1250 hormônios, ou outra substância análoga a estes, que influenciam no crescimento ou
1251 desenvolvimento da planta (MACHADO et al., 2011), ou ainda suprindo necessidades
1252 nutricionais pela solubilização de fosfatos (GRAVEL et al., 2007). Já os benefícios indiretos
1253 podem ser pela ação de microrganismos por meio da supressão de patógenos (HARMAN et al.,

1254 2004; SILVA et al., 2011; GAVA & MENEZES, 2012).

1255 Quanto à produção do hormônio, a síntese de auxinas, particularmente o ácido indol-
1256 acético (AIA) promove o crescimento das raízes e a proliferação de pelos radiculares, o que
1257 pode melhorar a absorção de nutrientes e água do solo e, conseqüentemente, melhorar o
1258 crescimento da planta (CABALLERO-MELLADO et al., 2006). Vários estudos têm reportado
1259 que os microrganismos estão ativamente envolvidos na síntese de auxinas, tanto em meio de
1260 cultura quanto no solo (SOUCHIE et al., 2007; CARVALHO FILHO, 2008).

1261 Diversos microrganismos do solo, como os fungos, solubilizam diferentes formas de
1262 fosfatos inorgânicos. Os fungos foram relatados como solubilizadores de fosfatos em diversos
1263 trabalhos (SOUCHIE et al.; 2005; VASSILEV et al., 2006; BARROSO & NAHAS, 2008;
1264 KAPRI & TEWARI, 2010). A utilização de microrganismos que possuem a capacidade de
1265 realizar este tipo de solubilização tem sido empregada como forma de substituir ou reduzir o
1266 uso de fertilizantes fosfáticos solúveis, pois dessa forma haverá melhor aproveitamento dos
1267 fosfatos naturais (SILVA FILHO et al., 2002)

1268 Além disso, carboidratos e enzimas são amplamente estudados por seu papel no
1269 crescimento da planta hospedeira e como moléculas sinalizadoras de plantas contra numerosos
1270 estresses abióticos e bióticos para mediar respostas de defesa em plantas hospedeiras (GILL E
1271 TUTEJA 2010; JAMMER et al. 2015). No recente aumento da pesquisa endofítica sobre FE, é
1272 importante focar na planta processos fisiológicos, como identificar as atividades dessas enzimas
1273 de carboidratos em relação à colonização por fungos, crescimento de plantas e desempenho de
1274 insetos herbívoros.

1275 Portanto uma maior compreensão da eficiência e capacidade dos entomopatogêncios *M.*
1276 *anisopliae* e *B. bassiana* e do promotor de crescimento *Trichoderma asperellum* em aumentar
1277 os níveis de clorofila e carboidratos de plantas de jambu, e a capacidade desses fungos em
1278 solubilizar fosfato e sintetizar AIA, são necessárias para caracterizar esses microrganismos com
1279 promotores do crescimento de plantas.

1280 A hipótese do trabalho, é que fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana* e
1281 o promotor de crescimento *Trichoderma asperellum* são capazes de atuar no incremento de
1282 clorofila *a* e *b*, níveis de carboidratos de plantas de *A. oleraceae*. Assim como são capazes de
1283 solubilizar fosfato e sintetizar AIA. Desse modo, o objetivo do trabalho é quantificar clorofila
1284 *a* e *b* e carboidratos de plantas de jambu inoculadas com fungos entomopatogênicos e com um
1285 promotor de crescimento, e quantificar a solubilização de fosfato e síntese de AIA dos isolados
1286 de *M. anisopliae*, *B. bassiana* e do padrão *T. asperellum*.

1287

1288 MATERIAL E MÉTODOS

1289 2.1 Área de estudo

1290 O estudo *in vivo* foi realizado em área comercial, pertencente a Associação dos Produtores
1291 e Hortifrutigranjeiros da Gleba do Guajará – APHA, localizada na área urbana e periurbana do
1292 município de Ananindeua, entre as coordenadas geográficas 1°19'28.55" S e 48°23'16.96", sob
1293 condições de campo, em canteiro suspenso em estufa protegida com filme plástico, tipo ultra
1294 violeta, transparente, espessura 100 micras, no período chuvoso, março de 2021. Os testes *in*
1295 *vitro* foram realizados no Laboratório de Proteção de Plantas- LPP, pertencente a Universidade
1296 Federal Rural da Amazônia- UFRA.

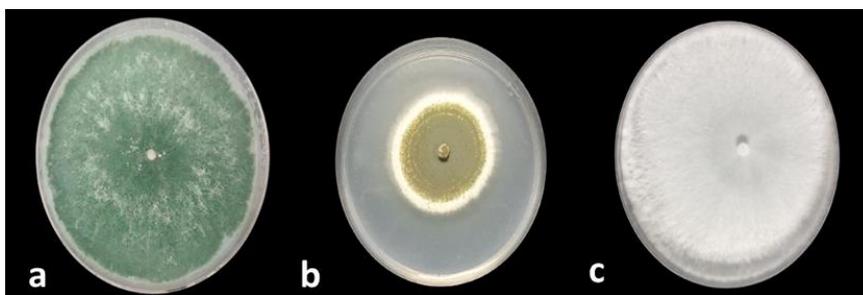
1297

1298 2.2 Microrganismos

1299 Os isolados fúngicos entomopatogênicos de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, e do promotor
1300 de crescimento *T. asperellium* utilizados, são nativos da Amazônia Brasileira e pertencem a
1301 Micoteca do Laboratório de Proteção de Plantas, da Universidade Federal Rural da Amazônia-
1302 UFRA, onde estão armazenados em Castelanni sob temperatura de 26°C. Bioensaios de
1303 screening toxicológico, preliminares, mostraram resultados positivos quanto a patogenicidade
1304 destes na colonização endofítica, do besouro *Tenebrio molitor*, em laboratório. Assim como na
1305 promoção de crescimento de plantas por *T. asperellum* (SOUSA et al.,2021; MAUÉS, et
1306 al.,2022)

1307

1308 Figura 15. Colônias de fungos entomopatogênicos utilizados como
1309 promotores de crescimento de plantas de jambu, *Acmella oleracea*.
1310 a) *T. asperellium* b) *M. anisopliae* c) *Beauveria Bassiana*.



1311 Fonte; Autor, 2022.

1312

1313

1314

1314 2.3 Crescimento de plantas

1315 Sementes do *A. oleracea*, de flor amarela, foram obtidas do banco de sementes ativo na
1316 área da Associação dos produtores e Hortifrutigranjeiros da Gleba do Guajará – APHA. A
1317 semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, utilizando-se

1318 substrato a base de composto orgânico peneirado, produzido a partir de caroço de açaí triturado
1319 e cama de aviário, na proporção 2:1. Foram semeadas dez sementes por célula, com finalidade
1320 de garantir, no momento do transplante, duas plântulas por célula, necessitando a realização de
1321 desbaste após a germinação, para deixar o número desejado de plântulas. A bandeja contendo
1322 as mudas foi acondicionada em ambiente protegido com 20% de redução na radiação, molhadas
1323 manualmente, duas vezes ao dia, até a capacidade de campo do substrato. As mudas, contendo
1324 quatro folhas cada, foram transplantadas 20 dias após semeadura, onde foram colocadas duas
1325 plantas por cova, no espaçamento de 5 x 10 cm.

1326 O canteiro foi adubado com 3 kg de composto orgânico por m², incorporado nos 10 cm
1327 superficiais do solo. Utilizou-se o sistema de produção em canteiros suspensos que apresentam
1328 80 cm de altura, 1,40 m de largura e 20 m de comprimento, protegido com filme plástico difusor
1329 de 100 micras, com proteção UV e antioxidantes com aditivos que distribuem a luz dentro da
1330 estufa e reduz em 20% a radiação, em parcelas de um metro quadrado, subdivididas em 0,20 x
1331 0,20m. As mudas foram irrigadas com micro aspersor de vazão 90L.h⁻¹ por 20 minutos, duas
1332 vezes ao dia. Também foi realizado o controle de plantas daninhas, de forma manual.

1333

1334 **2.4 Preparo das suspensões fúngicas**

1335 Os três isolados fúngicos foram preparados a partir de discos armazenados em
1336 Castelanni, onde foram colocados em placas de Petri contendo meio BDA (Batata- Dextrose-
1337 Agar) para crescimento das colônias axênicas. Os conídios foram colhidos com espátula estéril
1338 e suspensos em água destilada estéril, em seguida, centrifugados a 3.000 RPM por três minutos
1339 para remover fragmentos de hifas, conídios aglomerados e pedaços de ágar, repetido duas vezes.
1340 Cada suspensão foi ajustada em 1×10^8 conídios.mL⁻¹ com auxílio da câmara de Neubauer, e
1341 inoculados em arroz usando suspensões na concentração ajustada, para armazenamento.

1342

1343 **2.5 Inoculação dos microrganismos**

1344 Foram realizadas duas aplicações de cada tratamento, sendo uma no dia do transplante
1345 e outra 15 dias após o transplante. A inoculação dos fungos foi realizada por meio da aplicação
1346 direta da suspensão de conídios, sendo aplicados 20 mL de suspensão a 1×10^8 conídios.mL⁻¹
1347 por planta.

1348

1349 **2.6 Coleta do material e determinação dos pigmentos fotosintéticos**

1350 Para avaliar se os fungos promoveram alterações no metabolismo primário, as folhas de

1351 jambu foram embaladas em papel alumínio, imediatamente mergulhadas em nitrogênio líquido
1352 e armazenadas em freezer, -80 °C, até análise. O material foi liofilizado a - 20 °C por 48 horas.

1353 Para a determinação dos pigmentos utilizou-se protocolo descrito por Porra et al. (1989)
1354 por meio de um leitor de microplacas (OptiMax Tunable Microplate Reader). Em uma
1355 microplaca de 96 poços, foram adicionados em cada poço 20 µL do extrato etanólico fresco, 40
1356 µL do mix etanólico (contendo etanol 98%, 80% e 50% na proporção 2:1:2, respectivamente)
1357 e 120 µL de etanol 98%. Posteriormente foram feitas leituras em dois comprimentos de onda,
1358 665 e 645, correspondendo a clorofilas *Chl a* e *Chl b*, respectivamente. Os teores de clorofilas
1359 foram determinados por meio das equações abaixo e expressos em mg.g⁻¹ de massa fresca (MF).

$$1360 \quad Chl a = (5,48 \times Abs665) - (2,16 \times Abs645) \text{ µg/poço}$$

$$1361 \quad Chl b = (9,67 \times Abs645) - (3,04 \times Abs665) \text{ µg/poço}$$

1362

1363 **2.6 Análise bioquímica**

1364 Para análise bioquímica, uma alíquota de aproximadamente 20 mg de material
1365 liofilizado de folhas de *A. oleracea*, foram extraídos em 250 µL etanólico 98% e agitados em
1366 vórtex por 20 segundos. Posteriormente, foram agitados em 750 rpm, por 20 minutos a 80 °C e
1367 centrifugados logo em seguida em 13.000 rpm por 15 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi
1368 coletado e transferido para um microtubo de 2 mL. Em seguida foram adicionados 250 µL
1369 etanólico 80%, e realizados os mesmos procedimentos até a coleta do sobrenadante. A fase
1370 superior (polar e transparente) foi recolhida para um novo microtubo e armazenada a - 20 °C
1371 para posterior quantificação de açúcares solúveis (glicose, frutose e sacarose). O precipitado
1372 (*pellet*), foi lavado com 1000 µL de etanol 98%, centrifugado por 12 minutos em 13.000 rpm a
1373 4°C, para posterior quantificação de amido como descrito por Lisec (2006) e algumas
1374 modificações descritas.

1375

1376 **2.6.1 Quantificação de glicose, frutose e sacarose**

1377 Para estimar a glicose, frutose e sacarose utilizou-se o ensaio de substrato enzimático
1378 contínuo, como descrito por Fernie (2001), a partir de alíquota de 5 µL do extrato etanólico
1379 obtido anteriormente, onde foram adicionados em meio de reação de 205 µL [150 µL de tampão
1380 HEPES (KOH 0,1 M + 3 mM MgCl₂ em pH 7,0); 4,65 µL de ATP 109 mM (60 mg mL⁻¹); 4,65
1381 µL de NADP⁺ 48,4 mM (36 mg mL⁻¹); 0,77 µL de Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH –
1382 700 U mL⁻¹) e 45 µL de H₂O ultra pura] em microplaca por poço. A leitura das amostras foram

1383 realizadas em um leitor de microplaca (Molecular Devices, Sunny Valle, EUA) em
 1384 comprimento de onda de 340 nm. A cinética foi avaliada por meio da formação NADPH, devido
 1385 a adição de 1,5 U de Hexocinase (1,5 U em 5 μ L), sendo possível estimar a quantidade de
 1386 glicose presente no extrato. Após a estabilização da reação, foi adicionado 0,7 U de
 1387 Phosphoglucose isomerase (PGI – 0,7 U em 5 μ L), formando novamente NADPH, permitindo
 1388 estimar o teor de frutose nas amostras. Após a estabilização da reação foram adicionados na
 1389 reação 5 U de Invertase (5 U em 5 μ L) para que a quantidade de sacarose fosse estimada, a
 1390 partir da sua isomerização e posteriormente oxidação da glicose e frutose com a formação de
 1391 NADPH. Todos os cálculos foram baseados na equação:

$$1392 \quad \mu\text{mol de NADPH} = \frac{\Delta OD}{(2,85 \times 6,22)}$$

1393 Os valores foram corrigidos de acordo com a massa inicial das amostras e os resultados
 1394 expressos em μ mol de glicose, frutose e sacarose g^{-1} massa seca (MS).

1395

1396 **2.6.2. Quantificação de amido**

1397 Para determinar o amido, o precipitado (*pellet*) da extração etanólica foi solubilizado
 1398 por aquecimento a 95 $^{\circ}\text{C}$, em 400 μ L NaOH (0,1 M). Posteriormente, 61,25 μ L de solução de
 1399 ácido acético (1 M) foram adicionados às amostras para neutralização e conseqüente
 1400 degradação do amido. A degradação do amido, ocorreu a partir da adição de 10 μ L do extrato
 1401 neutralizado adicionado a 60 μ L do mix de degradação [59 μ L de tampão acetato de sódio (50
 1402 mm, pH 4,9) + 1 μ L de amilo glucosidase (170 U mL^{-1}) + 0,012 μ L de α -amilase (325 U mL^{-1})]. A reação de degradação ocorreu em *overnight* a 37 $^{\circ}\text{C}$.

1404 Após a etapa de degradação e a formação de resíduos de glicose a partir de amido
 1405 presente nas amostras, 10 μ L do extrato obtido da degradação foram adicionados em meio de
 1406 reação de 200 μ L [150 μ L de tampão HEPES (KOH 1 M + 30 mM MgCl_2 em pH 7,0); 4,65 μ L
 1407 de ATP 109 mM (60 mg mL^{-1}); 4,65 μ L de NADP^+ 48,4 mM (36 mg mL^{-1}); 0,77 μ L de Glicose-
 1408 6-fosfato desidrogenase (G6PDH – 700 U mL^{-1}) e 40 μ L de H_2O ultra pura] em microplaca de
 1409 96 poços. Foi realizada a leitura das amostras em comprimento de onda de 340 nm. A cinética
 1410 foi avaliada por meio da formação NADPH, devido a adição de 2 U de Hexocinase (2 U em 5
 1411 μ L), sendo possível estimar o conteúdo de amido determinado como equivalentes de glicose
 1412 (HENDRIKS et al., 2003), conforme a fórmula abaixo:

$$1413 \quad \mu\text{mol de NADPH} = \frac{\Delta OD}{(2,85 \times 6,22)}$$

1414 Os valores foram corrigidos de acordo com a massa inicial das amostras e os resultados

1415 expressos em mmol de equivalente glicose g^{-1} massa seca (MS).

1416

1417 **2.7 Solubilização de fosfato**

1418 Para o ensaio de solubilização de fosfato *in vitro* os isolados fúngicos foram cultivados
1419 inicialmente em meio BDA (batata, dextrose e ágar) a 28°C , por sete dias. A partir dessas
1420 colônias foram retirados discos de aproximadamente 8,0 mm de diâmetro, contendo micélio e
1421 esporos, depositados em Erlenmeyer (250 mL), para os testes quanto ao potencial de
1422 solubilização de fosfato, *in vitro*, em meio NBRIP modificado (NAUTYAL, 1999), contendo
1423 os seguintes ingredientes (g L^{-1}): glicose, 10,0; $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 5,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,25; KCl,
1424 0,2; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1. Foram adicionados ao meio, 50 mL de K_2HPO_4 (10%) e 100 mL de CaCl_2
1425 (10%), para formação de precipitado insolúvel de fosfato de cálcio (CaHPO_4).

1426 A estimativa quantitativa de solubilização de fosfato foi realizada em triplicata em
1427 delineamento inteiramente casualizado. A incubação foi realizada a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ em um agitador a
1428 150 rpm, durante oito dias. Foram feitas avaliações aos dois, quatro, seis e oito dias após a
1429 repicagem. Para a determinação da concentração de fósforo (P) solúvel utilizou-se o método
1430 colorimétrico de Murphy & Riley (1962), subtraindo-se o P solúvel contido nos tratamentos
1431 pelo contido na amostra controle (meio de cultura com fosfato e sem inóculo). Para as
1432 avaliações foram utilizadas uma parte do reagente, 0,5 ml da amostra filtrada mais 5 mL de água
1433 destilada para cada amostra. Após 20 minutos de reação o P solúvel foi quantificado em
1434 espectrofotômetro no comprimento de onda de 725 nm de absorbância. A curva padrão para
1435 quantificação de P foi feita a partir do fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) e as
1436 concentrações calculadas em $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

1437

1438 **2.8 Produção de Ácido Indolacético (AIA)**

1439 Para a produção de AIA *in vitro* pelos isolados fúngicos, inicialmente os isolados foram
1440 previamente cultivados em placa de Petri em meio BDA (batata, dextrose e Agar), por sete dias
1441 a 28°C . Para a avaliação da produção de AIA foi utilizado meio de cultura FAN (glicose, 20 g;
1442 extrato de levedura, 3 g; K_2HPO_4 , 0,6 g; MgSO_4 , 0,3 g; pH 5,9 – 6,1) (FAN, 2002). Discos de
1443 meio (8 mm) contendo as estruturas dos isolados fúngicos foram transferidos para frascos de
1444 Erlenmeyer (250 mL) contendo 50 mL de meio FAN, na ausência (testemunha) e presença de
1445 L-triptofano. A concentração de L-triptofano utilizada foi de 100 mg L^{-1} , com três repetições
1446 por isolado para cada tratamento, em delineamento inteiramente ao acaso. Após dois, quatro,
1447 seis e oito dias de crescimento sob um agitador rotatório (150 rpm) a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, a massa fúngica
1448 foi separada por centrifugação a 12.000 rpm por 15 minutos. Para a análise colorimétrica de

1449 AIA (GORDON & WEBER, 1951) foram utilizados uma parte do reagente de Salkowski [FeCl₃
1450 0,5 mol L⁻¹ + HClO₄ (35%)] e duas partes do sobrenadante obtido de cada isolado. Após a
1451 comprovação qualitativa da presença de AIA (coloração rosa após 25 minutos de reação à
1452 temperatura de 28 °C no escuro), o fitohormônio foi quantificado em espectrofotômetro em 530
1453 nm. As concentrações, em µg mL⁻¹, foram calculadas a partir de uma curva padrão com
1454 concentrações conhecidas da forma sintética do hormônio (0 a 100 µg mL⁻¹), cujas leituras
1455 foram a base para calcular a concentração de AIA nas amostras.

1456

1457 **2.9 Tratamentos e delineamento experimental**

1458 . Foram utilizados três tratamentos fúngicos: *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *T. asperellum*
1459 (*Pool* UFRA T06, UFRA T09, UFRA T12, UFRA T52). O controle consistiu apenas da
1460 aplicação de água. O ensaio foi montado em canteiro suspenso protegido, em um delineamento
1461 em blocos casualizados, em esquema fatorial (4 x 2), com cinco repetições. Para avaliação
1462 foram coletadas quatro plantas por repetição, considerando o efeito de bordadura. ,

1463

1464 **3.0 Análise estatística**

1465 Inicialmente foi realizada a verificação de presença de dados discrepantes (GRUBBS,
1466 1969), normalidade dos erros (SHAPIRO; WILK, 1965) e homogeneidade das variâncias
1467 (BARTLETT, 1937). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste
1468 F, onde se verificou a significância dos efeitos isolados. As médias comparadas pelo teste Tukey
1469 ($P < 0.05$) usando o software R (versão 4.1.0 para Windows).

1470

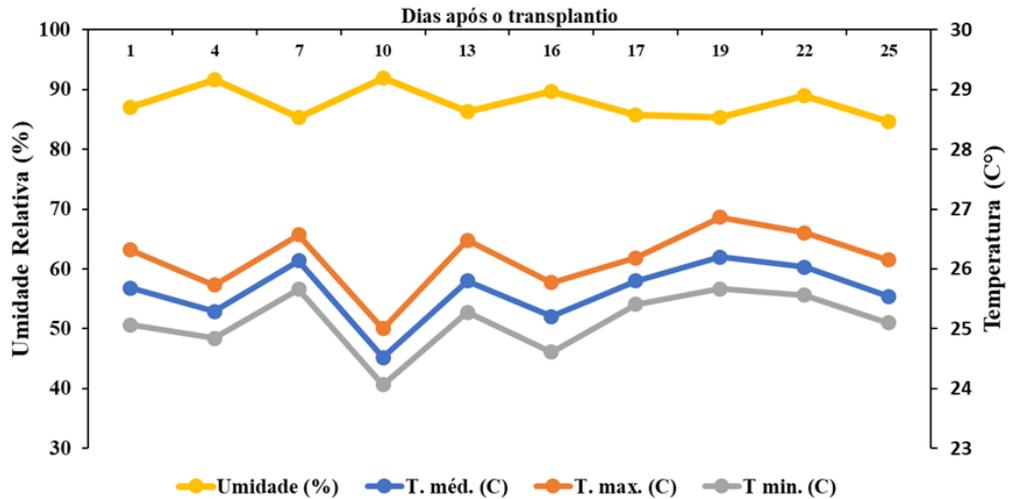
1471 **RESULTADOS**

1472 As Figuras 16 e 17, apresenta a flutuação de temperatura, umidade relativa do ar e
1473 precipitação ao longo dos 25 dias de experimento em campo, até a coleta das plantas de jambu
1474 submetidas aos tratamentos com os isolados fúngicos.

1475 A aplicação dos fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento em jambu
1476 induziu incrementos nos teores de clorofilas. Os maiores incrementos foram obtidos no
1477 tratamento com o promotor de crescimento *T. asperellum*. Esses incrementos positivos foram
1478 de 50% para *Chla*, em 45% para *Chlb*, em 50% para *Chla+b*, em 5% para a razão *Chla/Chlb*,
1479 no entanto a razão *Chla/Chlb* não diferiu do controle (Figura 18). Em relação aos tratamentos
1480 com *M. anisopliae* e *B. bassiana*, também houve incremento de 40% e 45% para *Chla*, 20% e
1481 32% para *Chlb*.

1482

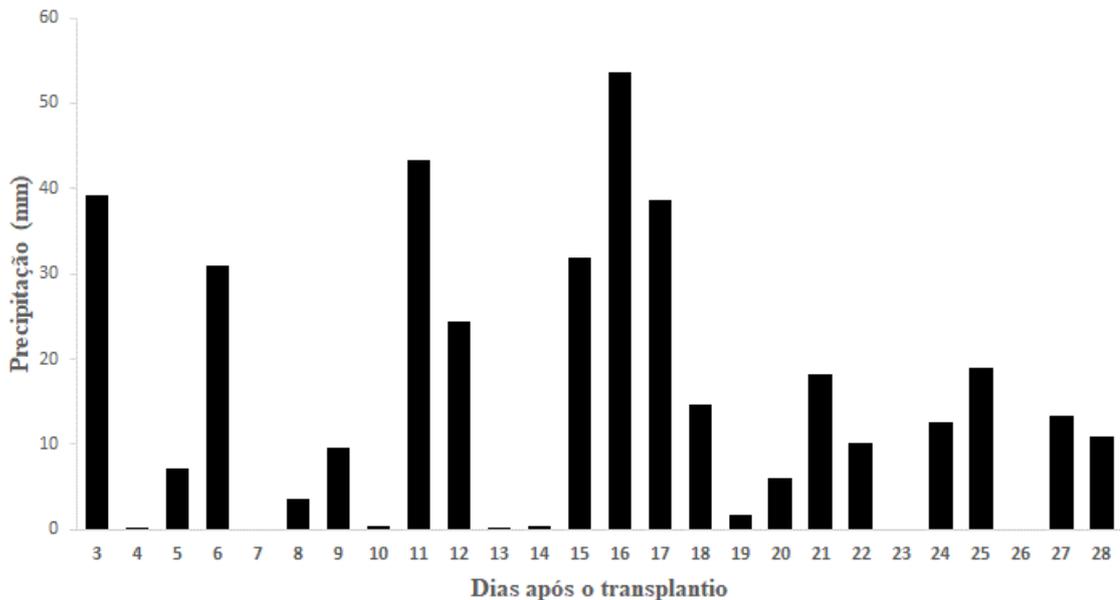
1483 Figura 16. Valores de umidade relativa e temperaturas mínimas, médias e máximas, mensuradas
 1484 durante 25 dias de condução do experimento em campo com plantas de jambu, *Acmella*
 1485 *oleracea*, no município de Ananindeua, Pará.
 1486



1487

1488

1489 Figura 17. Médias de precipitação diária mensuradas durante a condução do experimento
 1490 durante 25 dias de condução do experimento em campo com plantas de jambu, *Acmella*
 1491 *oleracea*, no município de Ananindeua, Pará.



1492

1493

1494

1495

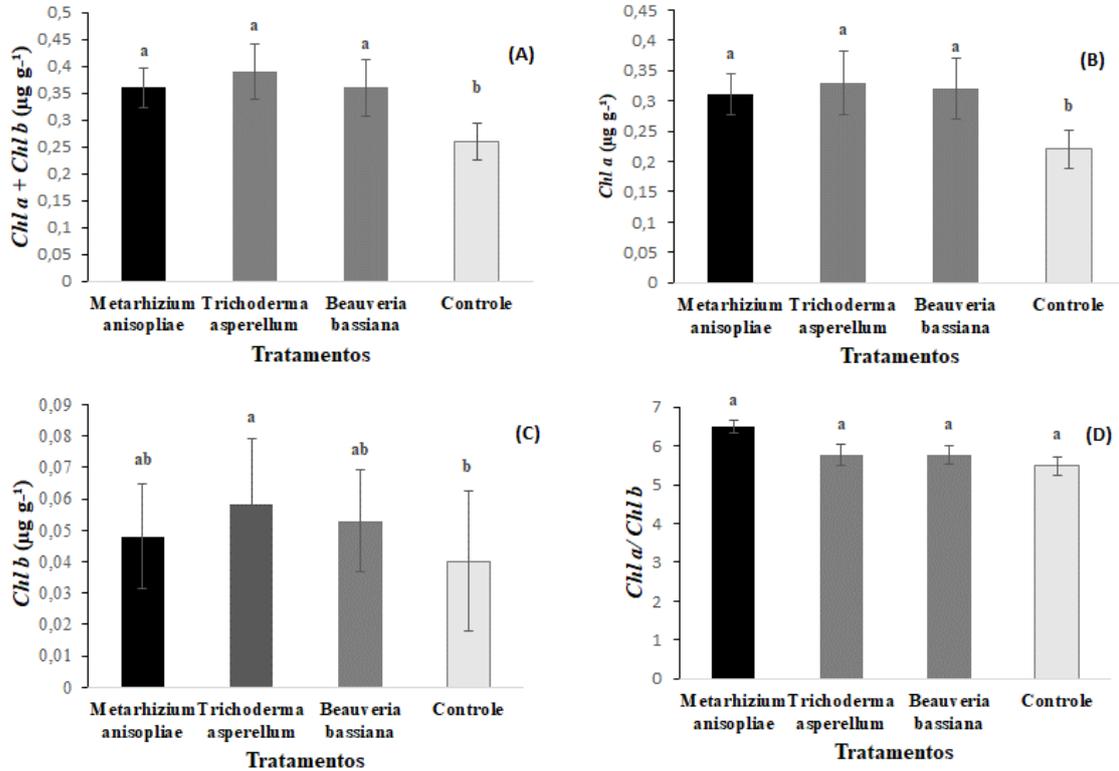
1496

1497

1498

Quanto aos carboidratos, as plantas bioestimuladas com fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento apresentaram diferentes respostas nas concentrações de sacarose, frutose e glicose, em relação às plantas controle (Figura 19). Por outro lado, não houve variação na concentração de amido nas folhas entre plantas inoculadas.

1499 Figura 18. (A) Teores totais de clorofila *a* + clorofila *b*, (B) clorofila *a*, (C) clorofila *b* e (D)
 1500 razão entre *Chla* e *Chlb* de plantas inoculadas com fungos entomopatogênicos e promotor de
 1501 crescimento, em resposta a promoção do crescimento de plantas de jambu *Acmella oleracea*
 1502 (L.) R.K. Jansen, em sistema de cultivo protegido.

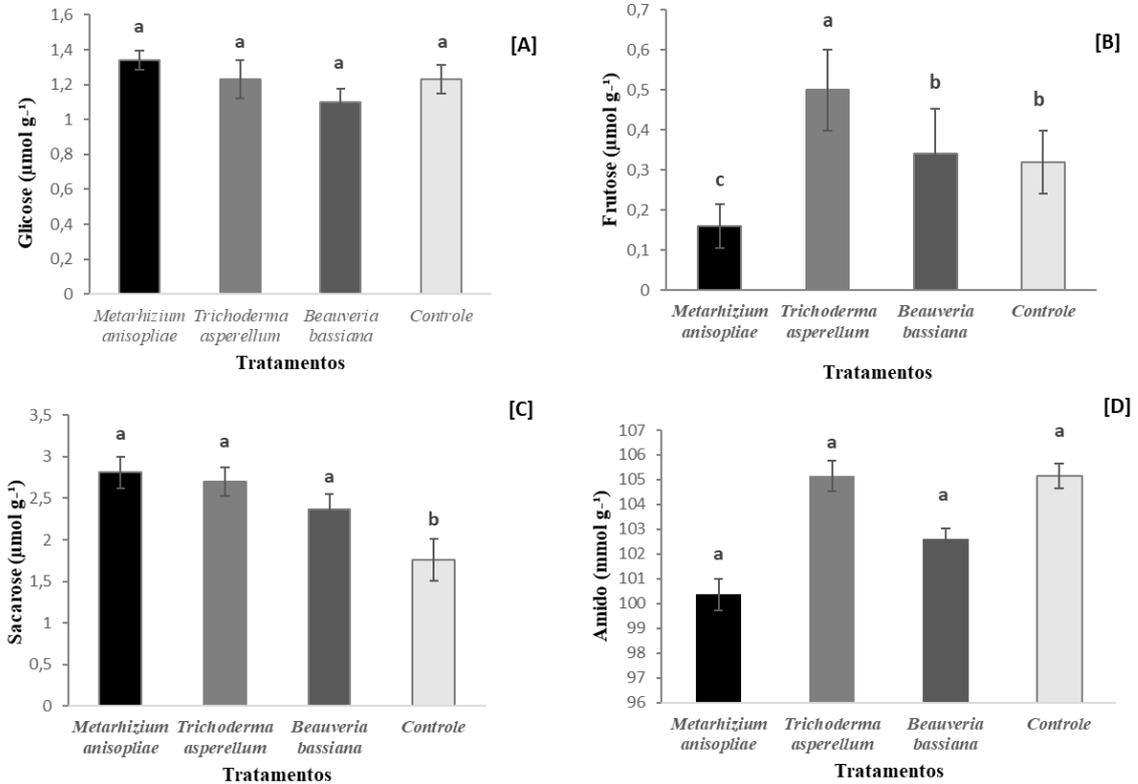


1503 *Letra minúscula comparam médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de significância. Os valores são
 1504 apresentados com médias de quatro repetições.
 1505

1506 De acordo com as respostas de concentração de frutose houve incremento em plantas
 1507 inoculadas com *T. asperellum* em 56%. Para os tratamentos com os fungos entomopatogênicos
 1508 não houve diferença significativa entre o controle e o tratamento com *B.bassiana*. As plantas
 1509 tratadas com *M. anisopliae* apresentaram concentrações de frutose menores que no tratamento
 1510 controle. Com os dados obtidos para a concentração de sacarose foi possível obter incremento
 1511 em todas as plantas bioestimuladas em relação ao controle (Figura 19 C). Os incrementos foram
 1512 de 60% para plantas inoculadas com *M. anisopliae*, 53% com *B.bassiana* e 34% com plantas
 1513 inoculadas com *T. asperellum*.

1514
 1515
 1516
 1517
 1518
 1519
 1520
 1521
 1522
 1523

1524 Figura 19. Concentrações foliares de sacarose[A]; frutose [B]; glicose [C]; amido [D], em
 1525 plantas inoculadas com fungos entomopatogênicos e promotor de crescimento, em resposta a
 1526 promoção do crescimento de plantas de jambu *Acemella oleracea* (L.) R.K. Jansen, em sistema
 1527 de cultivo protegido.



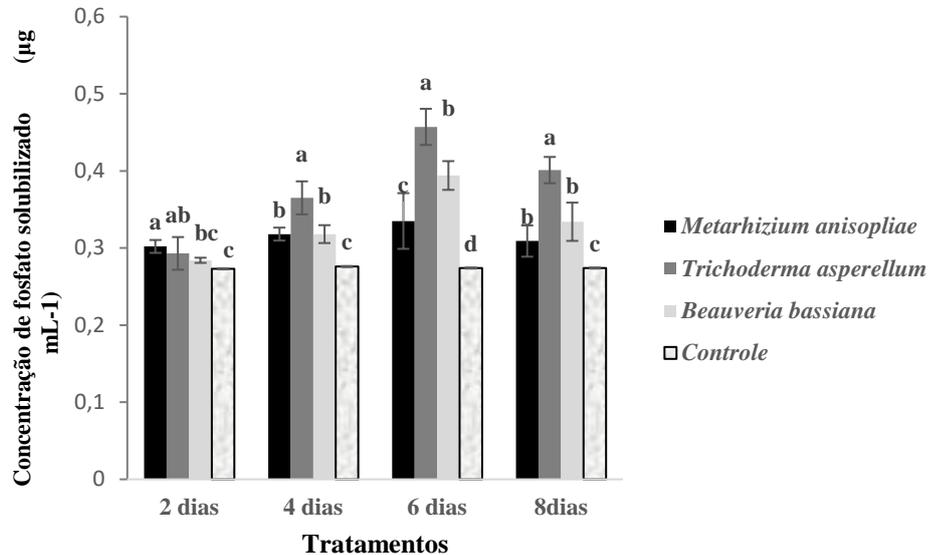
1528
 1529
 1530
 1531

*Letras minúsculas comparam médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de significância. Os valores são apresentados com médias de quatro repetições.

1532 No que se refere a resposta de solubilização de fostato, todos os isolados fúngicos
 1533 mostraram crescimento micelial em meio NBRIP modificado. A concentração de fosfato
 1534 solubilizado gradualmente aumentou, para todos os isolados, de dois a seis dias, e diminuiu em
 1535 seguida, no oitavo dias de crescimento (Figura 20).

1536
 1537
 1538
 1539
 1540
 1541
 1542
 1543
 1544
 1545
 1546
 1547
 1548
 1549

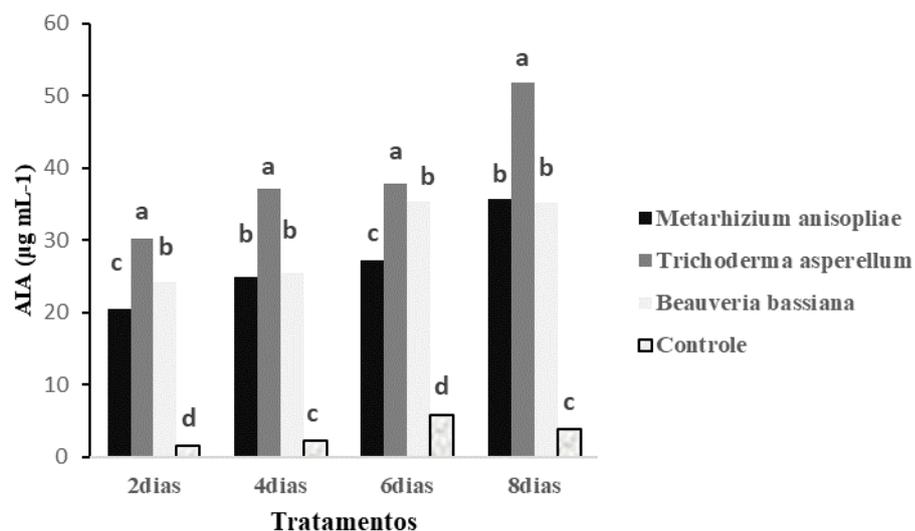
1550 Figura 20. Solubilização de fosfato de cálcio (10 g L^{-1}) em meio NBRIP (modificado) por
 1551 isolados de *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma asperellum* e *Beauveria bassiana*, em
 1552 diferente intervalo de tempo (dias).



1553 *Letra minúscula comparam médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de significância. Os valores são apresentados
 1554 com médias de quatro repetições.
 1555
 1556

1557 Quanto à capacidade de sintetizar ácido indol acético (AIA), todos os isolados
 1558 produziram AIA no meio de cultura FAN suplementado com L-triptofano, em relação ao
 1559 controle (Figura 21). O isolado *T. asperellum* foi o fungo que apresentou as maiores médias
 1560 durante do período de avaliação (Figura 21).
 1561

1562 Figura 21. Produção de AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$) por isolados de *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma*
 1563 *asperellum* e *Beauveria bassiana* em meio FAN na presença de L-triptofano¹.



1564 *Letras minúsculas comparam médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de significância. Os valores são apresentados
 1565 com médias de quatro repetições.
 1566
 1567

1568 **DISCUSSÃO**

1569 Os fungos desenvolveram diversas formas de interagir com uma variedade de
1570 organismos vivos, incluindo plantas, ao longo da evolução. Gêneros distintos de fungos
1571 entomopatógenos também foram identificados como endófitos de plantas (VEGA, 2008).
1572 Portanto, o estilo de vida multifacetado de fungos entomopatogênicos, como saprófitos,
1573 endófitos e agentes de biocontrole, podem oferecer vários benefícios à planta hospedeira, como
1574 promover o crescimento e proteção contra patógenos e pragas de insetos (HAO et al., 2021;
1575 AW e HUE, 2017). A promoção do crescimento de plantas e habilidades endofíticas dos fungos
1576 entomopatogênico *Metarhizium* spp. e *Beauveria* spp., atualmente vem sendo explorado.

1577 O presente trabalho demonstrou que plantas de jambu inoculadas com *M. anisopliae*,
1578 *B. bassiana* e com o promotor de crescimento *T. asperellum* obtiveram maiores níveis de
1579 clorofila a, b e clorofila total (a+b), em comparação com as plantas não inoculadas, tratamento
1580 controle. O aumento observado no teor de clorofila total quando as plantas inoculadas com *M.*
1581 *anisopliae*, *B. bassiana* e *T. asperellum* correlacionaram-se com o aumento de sua biomassa
1582 observadas no capítulo 1, gerando plantas mais vigorosas. O aumento no teor de clorofila
1583 durante a interação da planta com microrganismos sonoros, como espécies de *Trichoderma*,
1584 fungos micorrízicos arbusculares, rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e *M.*
1585 *anisopliae* já foi relatado em diversos artigos (CHIRINO-VALLE et al., 2016; KHAN et al. ,
1586 2012; NIETO-JACOBO et al., 2017; RAI et al., 2008; STEFAN et al., 2013; SUZUKI et al.,
1587 2014). Khan e outros. (2012) informaram que plantas de soja inoculadas com *M. anisopliae*
1588 (linhagem LHL07) sob estresse salino aumentaram os níveis de clorofila, transpiração e taxa
1589 fotossintética.

1590 O aumento do conteúdo de clorofilas (*Chla* e *Chlb*) em plantas inoculadas pode ter
1591 contribuído para a maior eficiência na absorção de luz, transferência de energia, transferência
1592 de elétrons e maior controle na dissipação do excedente de energia térmica (SAMANIEGO-
1593 GÁMEZ et al. 2016)

1594 Este estudo é o pioneiro em demonstrar que as inoculações de fungos
1595 entomopatogênicos e promotor de crescimento *Trichoderma* em plantas, mudou a atividade de
1596 alguns carboidratos em jambu, apoiando a hipótese de mudanças fisiológicas nas plantas após
1597 tratamentos com os fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana*, assim como, com a
1598 inoculação do promotor de crescimento *T. asperellum*. Plantas inoculadas com *M. anisopliae*,
1599 *B. bassiana* e *T. asperellum* apresentaram alterações nos níveis de sacarose e no nível de frutose.

1600 Os carboidratos, sacarose, glicose e frutose, não apenas regulam muitos processos no
1601 ciclo de vida da planta, mas também atuam como moléculas de sinalização em plantas

1602 (GIBSON 2005; HALFORD et al., 2011). A sacarose é uma molécula central para o
1603 metabolismo vegetal, que sofre clivagem hidrolítica irreversível por vacúolo, parede celular e
1604 invertases citoplasmáticas em hexoses (glicose e frutose) (ROITSCH e GONZÁLEZ 2004).

1605 Também foi possível observar com esse estudo que, isolados fúngicos de *M. anisopliae*,
1606 *B. bassiana* e *T. asperellum* produziram AIA no meio FAN suplementado com L-triptofano. A
1607 produção do ácido indol-3-acético (IAA) também foi relatada em algumas espécies de
1608 *Metarhizium*. Siqueira et al. (2020) verificaram que as cepas de *M. robertsii*, *M. humberi* e *M.*
1609 *anisopliae* podem produzir IAA quando cultivadas em meio Potato Dextrose Broth com ou sem
1610 L-triptofano. Assim como, a produção da auxina ácido indol-3-acético foi similarmente
1611 associada a várias cepas de *Metarhizium* e *Beauveria* (LIAO et al., 2017). A produção de AIA
1612 pelos isolados de *Trichoderma* e entomopatogenicos avaliados sugere o uso potencial desses
1613 fungos como promotores do crescimento radicular de espécies vegetais de importância agrícola,
1614 conforme documentado por Bjorkman (2004), Resende et al. (2004), Gravel et al. (2007) e
1615 Carvalho Filho (2008).

1616 A pesquisa também encontrou que, todos os isolados fúngicos apresentaram o potencial
1617 de solubilização de fostato do segundo ao sexto dia de avaliação, havendo redução na
1618 solubilização de fostato, a partir do oitavo dia. A redução da concentração de fosfato
1619 solubilizado, aos oito dias após a repicagem, pode ter sido em função da sua utilização pelos
1620 fungos para os processos celulares. A diminuição gradual no concentração de fosfatos ao longo
1621 do tempotambém foi reportada em outros trabalhos (NAUTIYAL, 1999; KAPRI & TEWARI,
1622 2010) e, pode estar correlacionada com a sua fixação no micélio dos isolados fúngicos. Segundo
1623 Kapri & Tewari (2010), este fosfato poderá ser libertado de uma forma facilmente disponível
1624 em estreita proximidade com as raízes após a lise de micélio com a idade.

1625 Os resultados obtidos demonstram o potencial dos fungos entomopatogênicos *M.*
1626 *anisopliae* e *B. bassiana* como possíveis promotores do crescimento vegetal, tendo em vista a
1627 capacidade de aumentar os níveis de clorofila e os níveis de sacarose da planta, assim como,
1628 tem a capacidade de solubilizar fosfato e síntese de AIA, porém é necessário testes de
1629 inoculação de desses fungos em outras espécies vegetais.

1630

1631

1632 CONCLUSÃO

1633 - Os fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana*, assim como o fungo *T.*
1634 *asperellum* aumentaram os níveis de *Chl a* *Chl b* e *Chl* total em plantas de *A. oleracea*.

1635

1636 - Os fungos *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *T. asperellum* inoculados em plantas de jambu,
 1637 aumentaram o nível de sacarose, no entanto, apenas *T. asperellum* foi capaz de aumentar o nível
 1638 de frutose nas plantas.

1639

1640 - Os três fungos avaliados no trabalho são capazes de solubilizar fosfato de cálcio em
 1641 meio de cultura e produzir AIA na presença do percussor L-triptofano em meio de cultura FAN,
 1642 destacando-se com os melhores resultados, o isolado *T. asperellum*.

1643

1644 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1645

1646 ALABOUVETTE, C., HEILIG, U., E CORDIER, CH. “Controle microbiano de doenças de
 1647 plantas”, em Microorganismos benéficos na agricultura, alimentação e meio ambiente:
 1648 avaliação e regulamentação de segurança, eds I. Sundh, A. Wilcks, M. Stanisław Goettel, et al.
 1649 (Wallingford: CAB International), 96–111. doi: 10.1079/ 9781845938109.0000. 2012.

1650

1651 AW, KMS, HUE, SM. Modo de infecção de *Metarhizium* spp. fungos e seu potencial como
 1652 agentes de controle biológico. **J. Fungus** 3 (2), 30. 2017. <https://doi.org/10.3390/jof3020030> .

1653

1654 BARRA-BUCAREI L, IGLESIAS AF, GONZÁLEZ MG, AGUAYO GS, CARRASCO-
 1655 FERNÁNDEZ J, CASTRO JF, CAMPOS JO. Atividade antifúngica do endófito *Beauveria*
 1656 *bassiana* contra *Botrytis cinerea* em duas culturas de *Solanaceae* . *Microorganismos* 8:1–15.
 1657 <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010065>. 2020.

1658

1659 BARROSO, C.B.; NAHAS, E. Solubilização de fosfato de ferro em meio de cultura. **Pesquisa**
 1660 **Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 4, p. 529-535, 2008.

1661

1662 BENNEKOU, S.H. Caminhando em direção a uma abordagem holística para avaliação de
 1663 riscos à saúde humana – A abordagem atual é adequada para o propósito? *EFSA J.* 17:e170711.
 1664 2019. doi: 10.2903/

1665

1666 BJORKMAN, T. Effect of *Trichoderma* colonization on auxin-mediated regulation of root
 1667 elongation. **Plant Growth Regulation**, Berlin, v. 43, n. 1, p. 89-92, 2004.

1668

1669 CABALLERO-MELLADO, J. Microbiología agrícola y interacciones microbianas con plantas.
 1670 **Revista Latinoamericana de Microbiología**, México, v. 48, n. 2, p. 154-161, 2006.

1671

1672 CARVALHO FILHO, M.R. ***Trichoderma* spp. como agentes de biocontrole de**
 1673 ***Cylindrocladium scoparium* e como promotores de crescimento de mudas de eucalipto.**
 1674 Brasília: Universidade de Brasília, 2008. 74p. Dissertação Mestrado.

1675

1676 CARVALHO FILHO, M.R. ***Trichoderma* spp. como agentes de biocontrole de**
 1677 ***Cylindrocladium scoparium* e como promotores de crescimento de mudas de eucalipto.**
 1678 Brasília: Universidade de Brasília, 2008. 74p. Dissertação Mestrado.

1679

1680 CHIRINO-VALLE, I., KANDULA, D., LITTLEJOHN, C., HILL, R., WALKER, M.,
 1681 SHIELDS, M., WRATTEN, S. Potencial do fungo benéfico *Trichoderma* para melhorar o

- 1682 serviço ecossistêmico benefício no biocombustível grama *Miscanthus giganteus* na agricultura.
1683 **ciência Rep.** 6, 25109. 2016. <https://doi.org/10.1038/srep25109>.
1684
- 1685 CHOJNACKA, K., MOUSTAKAS, K. E WITEK-KROWIAK, A. Fertilizantes de base
1686 biológica: uma abordagem prática para a economia circular. *Biorecurso. Tecnol.* 295:122223.
1687 doi: 10.1016/j.biortech.2019.122223. 2020.
1688
- 1689 FERNIE AR, CARRARI F, SWEETLOVE LJ. Respiratory metabolism: Glycolysis, the TCA
1690 cycle and mitochondrial electron transport. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2014
1691
- 1692 GAVA, C.A.T.; MENEZES, M.E.L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp no controle de
1693 patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 4,
1694 p. 633-640, 2012.
1695
- 1696 GIBSON SI. Controle do desenvolvimento de plantas e expressão gênica por sinalização de
1697 açúcar. **Curr Opin Plant Biol** 8:93–102. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.11.003>
1698
- 1699 GILL SS, TUTEJA N. Espécies reativas de oxigênio e maquinaria antioxidante na tolerância
1700 ao estresse abiótico em plantas cultivadas. **Plant Physiol Biochem** 48:909–930.
1701 <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>. 2010.
1702
- 1703 GORDON, S.A.; WEBER, R.P. Colorimetric estimation of indole acetic acid. **Plant**
1704 **Physiology**, Rockville, v. 26, n. 1, p. 192-195, 1951.
1705
- 1706 GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R.J. Growth stimulation and fruit yield
1707 improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or
1708 *Trichoderma atroviride*: Possible role of índole acetic acid (IAA). **Soil Biology &**
1709 **Biochemistry**, Amsterdam, v. 39, n. 8, p. 1968-1977, 2007.
1710
- 1711 HAO, Q., ALBAGHDADY, DMD, XIAO, Y., XIAO, X., MO, C., TIAN, T., WANG, G., 2021.
1712 Endofítico *Metarhizium anisopliae* é um potencial agente de biocontrole contra o crescimento
1713 de *Fusarium* do trigo causado por *Fusarium graminearum*. **J. Plant Pathol.** 2021. 1–11
1714 <https://doi.org/10.1007/s42161-021-00866-6>.
1715
- 1716 HARMAN, G.E., HOWELL, C.R., VITERBO, A., CHET, I., LORITO, M. *Trichoderma*
1717 species opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Review Microbiology**, London, v. 2,
1718 n. 1, p. 43-56, 2004.
1719
- 1720 HUANG, J., XU, C.-C., RIDOUTT, BG, WANG, X.-C., AND REN, P.-A. Perdas de nitrogênio
1721 e fósforo e potencial de eutrofização associados à aplicação de fertilizantes em terras agrícolas
1722 na China. *J. Limpo. Produtos.* 159, 171–179. doi: 10.1016/j.jclepro.2017.05.008. 2017.
1723
- 1724 JABER LR, OWNLEY BH. Podemos usar fungos entomopatogênicos como endófitos para
1725 controle biológico duplo de pragas de insetos e patógenos de plantas? *Biol. Controle* 116:36–
1726 45. 2018.
1727
- 1728 JABER, LR E ENKERLI, J. Entomopatogênicos fúngicos como endófitos: eles podem
1729 promover o crescimento de plantas? *Biocontrol Sci. Technol.* 27, 28–41. 2017.
1730

- 1731 JAMMER A, GASPERL A, LUSCHIN-EBENGREUTH N, ET AL. Determinação simples e
1732 robusta da assinatura de atividade das principais enzimas do metabolismo de carboidratos para
1733 fenotipagem fisiológica em plantas modelo e cultivadas. **J Exp Bot** 66:5531–5542.
1734 <https://doi.org/10.1093/jxb/erv228>. 201
- 1735
- 1736 KAPRI, A.; TEWARI, L. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of
1737 rhizospheric *Trichoderma* spp. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 41, n. 3, p.
1738 787-795, 2010.
- 1739
- 1740 KHAN, AL, HAMAYUN, M., KHAN, SA, KANG, SM, SHINWARI, ZK, KAMRAN, M.,
1741 LEE, IJ. A cultura pura de *Metarhizium anisopliae* LHL07 reprograma a soja para um maior
1742 crescimento e mitiga o estresse salino. **Mundo J. Microbiol. Biotecnologia**. 28 (4), 1483-1494.
1743 2012. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0950-9>.
- 1744
- 1745 KUREK, E. E OZIMEK, E. “O uso da atividade microbiológica do solo para aumentar a
1746 disponibilidade de fósforo e potássio para as plantas,” em *Soil Microbial Activity and Its*
1747 *Fertility*, eds J. Tyburski, B. Godden e MJ Pennickx (Olsztyn: University of Warmia and
1748 Mazury em Olsztyn), 119–136. 2013.
- 1749
- 1750 LIAO, X.; LOVETT, B.; FANG, W.; ST. LEGER, R. J. *Metarhizium robertsii* produces indole-
1751 3-acetic acid, which promotes root growth in *Arabidopsis* and enhances virulence to insects.
1752 **Microbiology**. v.163, p. 980–991, 2017. DOI: 10.1099/mic.0.000494.
- 1753
- 1754 MACHADO, R.G.; SÁ, E.L.S.; DAMASCENO, R.G.; HAHN, L.; ALMEIDA, D.; MORAES,
1755 T.; CAMARGO, F.A.O.; REARTES, D.S. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L.
1756 e *Avena strigosa* Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio.
1757 **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 111-126, 2011.
- 1758
- 1759 MARRONE, P.G. Produtos pesticidas naturais – situação e potencial futuro. Controle de
1760 Pragas. **Sci**. 75, 2325–2340.2019.
- 1761
- 1762 MAUÉS, THAMIRES MONTEIRO SILVA ; DA SILVA COSTA, RAFAEL RODRIGO ;
1763 DOS SANTOS, MARCOS ANTÔNIO SOUZA ; da Silva, Gisele Barata . Agroeconomic
1764 performance of banana tree under nutritional management with *Trichoderma asperellum*, in a
1765 family production system. **AIMS AGRICULTURE AND FOOD** , v. 7, p. 297-311, 2022.
- 1766
- 1767 MORENO, S. C. *et al.* Bioactivity of compounds from *Acmella oleracea* against *Tuta absoluta*
1768 (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) and selectivity to two non-target species. **Pest**
1769 **Management Science**, v. 68, n. 3, p. 386–393, 2012.
- 1770
- 1771 MOZUMDER, P. E BERRENS, RP. Uso de fertilizantes inorgânicos e risco à biodiversidade:
1772 uma investigação empírica. **Eco. econ**. 62, 538–543. doi: 10.1016/j.ecolecon 2006.07.016.
1773 2007.
- 1774
- 1775 MURPHY, J.; RILEY, J.P. A modified single solution method for determination of phosphate
1776 in natural waters. **Analytical Chemistry Acta**, Amsterdam, v. 27, p. 31-36, 1962.
- 1777
- 1778 NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphorus
1779 solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, Malden, v. 170, n. 1, p. 265-270,
1780 1999.
- 1781

- 1782 NIETO-JACOBO, MF, STEYAERT, JM, SALAZAR-BADILLO, FB, NGUYEN, DV,
1783 ROST´AS, M., BRAITHWAITE, M., MENDOZA-MENDOZA, A.. Condições ambientais de
1784 crescimento de *Trichoderma* spp. afetando conseqüências de ácido indol acético, compostos
1785 orgânicos voláteis e promoção de crescimento de plantas. *Frente. Plant Sci.* 8, 102. 2017.
1786 <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00102> .
1787
- 1788 NORSE, D. Poluição difusa da produção agrícola: questões globais, regionais e nacionais.
1789 *Pedofera* 15, 1–10. 2005.
1790
- 1791 OLIVEIRA, P. R.; REMÉDIO, R. N.; BECHARA, G. H.; ANHOLETO, L. A.; CAMARGO-
1792 MATHIAS, M. I. C. Dinotefuran-induced morphophysiological changes in the ovaries and
1793 midgut of semi-engorged females *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (Acari: Ixodidae)
1794 ticks. *Parasitology Research*, v. 115, n. 2, p. 829– 849, 2016a.
1795
- 1796 PORRA et al. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous
1797 equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification
1798 of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *BBA -*
1799 *Bioenerg* 975. 1989. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(89\)80347-0](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(89)80347-0)
1800
- 1801 RAI, MK, SHENDE, S., STRASSER, RJ. Teste JIP para transientes de fluorescência rápida
1802 como técnica rápida e sensível na avaliação da eficácia de fungos micorrízicos arbusculares em
1803 *Zea mays*: análise de clorofila a fluorescência. *Biossist.* 142 (2), 191-198. 2008.
1804 <https://doi.org/10.1080/11263500802150225>.
1805
- 1806 RESENDE, M.L. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como
1807 promotor de crescimento. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 28, n. 4, p. 793-798, 2004.
1808
- 1809 ROITSCH T, GONZÁLEZ MC. Função e regulação das invertases vegetais: Doces sensações.
1810 Tendências *Plant Sci* 9:606–613. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.10.009>
1811
- 1812 RONDANELLI, M.; FOSSARI, F.; VECCHIO, V.; BRASCHI, V.; RIVA, A.; ALLEGRI, P.;
1813 PETRANGOLINI, G.; IANNELLO, G.; FALIVA, M.A.; PERONI, G.; et al. *Acmella*
1814 *oleracea* for pain management. *Fitoterapia*, 140, 1044-19. [CrossRef]. 2020.
1815
- 1816 SAMANIEGO-GÁMEZ, BY, GARRUÑA, R., TUN-SUÁREZ, JM, KANTUN-CAN, J.,
1817 REYES-RAMÍREZ, A., Y CERVANTES-DÍAZ, L. *Bacillus* spp. a inoculação melhora a
1818 eficiência do fotossistema II e aumenta a fotossíntese em plantas de pimenta. *Revista Chilena*
1819 *de Pesquisa Agrícola*. 2016. 76(1), 77-83. DOI:76(4), 409–416.
1820
- 1821 SÁNCHEZ-BAYO, F., E WYCKHUYS, KAG. Declínio mundial da entomofauna: uma revisão
1822 de seus drivers. *Biol.Conserv.* 232, 8–27. 2019. doi: 10.1016/j. biocon.2019.01.020.
1823
- 1824 SILVA FILHO, G.N.; NARLOCH, C.; SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por
1825 microrganismos isolados de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. *Pesquisa Agropecuária*
1826 *Brasileira*, Brasília, v. 37, n. 6, p. 847-854, 2002.
1827
- 1828 SILVA, V.N.; GUZZO, S.D.; LUCON, C.M.M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento
1829 e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. *Pesquisa*
1830 *Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, 2011.
1831

- 1832 SIMAS, N.K.; DELLAMORA, E.D.C.L.; SCHRIPSEMA, J.; LAGE, C.L.S.; DE OLIVEIRA
1833 FILHO, A.M.; WESSJOHANN, L.; PORZEL, A.; KUSTER, R.M. Acetylenic 2
1834 phenylethylamides and new isobutylamides from *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, a
1835 Brazilian spice with larvicidal activity on *Aedes aegypti*. **Phytochemistry**, 6, 67–72.
1836 [[CrossRef](#)], 2013.
1837
- 1838 SIQUEIRA, ACO, MASCARIN, GM, GONÇALVES, CR, MARCON, J., QUECINE, MC,
1839 FIGUEIRA, A., DELALIBERA JR., I. Características bioquímicas multicaracterísticas de
1840 espécies de *Metarhizium* e suas atividades que estimulam o crescimento de plantas de tomate.
1841 Frente. **Sustentar. Food Syst** 4, 137. 2020. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00137>.
1842
- 1843 SOUCHIE, E.L.; ABBOUD, A.C.S.; CAPRONI, A.L. Solubilizadores de fosfatos *in vitro* por
1844 microrganismos rizosféricos de guandu. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v. 23, n. 2, p. 53-60,
1845 2007.
1846
- 1847 SOUCHIE, E.L.; AZCÓN, R.; BAREA, J.M.; SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; SILVA, E.M.R.
1848 Solubilização de fosfatos em meios sólido e líquido por bactérias e fungos do solo. **Pesquisa**
1849 **Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 11, p. 1149-1152, 2005.
- 1850 SOUSA, THATYANE PEREIRA ; CHAIBUB, AMANDA ABDALLAH ; CORTES,
1851 MARCIO VINICIUS DE CARVALHO BARROS ; BATISTA, TELMA FÁTIMA COELHO
1852 ; BEZERRA, GUSTAVO DE ANDRADE ; da Silva, Gisele Barata ; DE FILIPPI, MARTA
1853 CRISTINA CORSI . Molecular identification of *Trichoderma* sp. isolates and biochemical
1854 characterization of antagonistic interaction against rice blast. ARCHIVES OF
1855 MICROBIOLOGY , v. xx, p. xx-xx, 2021.
- 1856 SPINOZZI, E.; PAVELA, R.; BONACUCINA, G.; PERINELLI, D.R.; CESPI, M.;
1857 PETRELLI, R.; CAPPELLACCI, L.; FIORINI, D.; SCORTICHINI, S.; GARZOLI, S.; et al.
1858 Spilanthal-rich essential oil obtained by microwave-assisted extraction from *Acmella oleracea*
1859 (L.) R.K. Jansen and its nanoemulsion: Insecticidal, cytotoxic and anti-inflammatory activities.
1860 **Ind. Crops Prod.**, 172, 114027. [[CrossRef](#)], 2021.
1861
- 1862 STEFAN, M., MUNTEANU, N., STOLERU, V., MIHASAN, M., HRITCU, L. A inoculação
1863 de sementes com Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas aumentam a fotossíntese
1864 e o rendimento do feijão (*Phaseolus coccineus* L.). **ciência Hortico**. 151, 22-29. 2013.
1865 <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.12.006>.
1866
- 1867 SUZUKI, W., SUGAWARA, M., MIWA, K., MORIKAWA, M. Promovendo o crescimento
1868 de plantas A bactéria *Acinetobacter calcoaceticus* P23 aumenta o teor de clorofila da
1869 monocotiledônea *Lemna minor* (lentilha) e da dicotiledônea *Lactuca sativa* (alface). J. 2014.
1870 **Biosci**.
1871
- 1872 VASSILEV, N.; MEDINA, A.; AZCÓN, R.; VASSILEVA, M. Microbial solubilization of rock
1873 phosphate on media containing agro-industrial wastes and effect of the resulting products on
1874 plant growth and P uptake. **Plant and Soil**, Amsterdam, v. 287, n. 1-2, p. 77-84, 2006.
1875
- 1876 VEGA FE. Patologia de insetos e endófitos fúngicos. **J Invertebr Pathol** 98:277–279. 2008.
1877 <https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.01.008>
1878

- 1879 VEGA, FE, GOETTEL, MS, BLACKWELL, M., CHANDLER, D., JACKSON, MA,
1880 KELLER, S., et al. Entomopatogênicos fúngicos: novos insights sobre sua ecologia. **Fungal**
1881 **Ecol.** 2, 149–159. doi: 10.1016/j.funeco.2009.05.001 Vimal, SR, Singh, JS. 2009.
1882
1883 VEGA, FE. Patologia de insetos e fungos endofíticos. **J. Invertebr. Patol.** 98, 277-279. 2008.
1884
1885