



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS

**EFEITO DA INOCULAÇÃO DA LEVEDURA RIZOSFÉRICA *Torulaspora globosa*
(6S01) EM COMBINAÇÃO COM GLICOSE E TRIPTOFANO, SOBRE O
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE MILHO.**

PATRÍCIA HERRMANN CORRÊA

Araras

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS

**EFEITO DA INOCULAÇÃO DA LEVEDURA RIZOSFÉRICA *Torulaspota globosa*
(6S01) EM COMBINAÇÃO COM GLICOSE E TRIPTOFANO, SOBRE O
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE MILHO.**

PATRÍCIA HERRMANN CORRÊA

ORIENTADOR: PROFa. Dra. MÁRCIA MARIA ROSA MAGRI

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Produção
Vegetal e Bioprocessos Associados
como requisito parcial à obtenção do
título de MESTRE EM PRODUÇÃO
VEGETAL E BIOPROCESSOS
ASSOCIADOS

Araras

2019

Herrmann Corrêa, Patrícia

Efeito da inoculação da levedura rizosférica *Torulaspota globosa* (6S01) em combinação com glicose e triptofano, sobre o desenvolvimento inicial de milho. / Patrícia Herrmann Corrêa. -- 2019.

63 f. : 30 cm.

Dissertação (mestrado)-Universidade Federal de São Carlos, campus Araras, Araras

Orientador: Dra Marcia Maria Rosa Magri

Banca examinadora: Dr. Everal Rafael Damatto Junior, Dra. Sandra Regina Cecatto Antonini

Bibliografia

1. microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV). 2. *Torulaspota globosa*. 3. bioestimuladores. I. Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo Programa de Geração Automática da Secretaria Geral de Informática (SIn).

DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

Bibliotecário(a) Responsável: Maria Helena Sachi do Amaral – CRB/8 7083



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Patricia Herrmann Corrêa, realizada em 24/05/2019:

Profa. Dra. Marcia Maria Rosa Magri
UFSCar

Prof. Dr. Erval Rafael Damatto Junior
APTA

Profa. Dra. Sandra Regina Ceccato Antonini
UFSCar

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.
(Marthin Luther King)

AGRADECIMENTOS

Agradecer a todos que me incentivaram a concluir essa dissertação é uma tarefa de extrema dificuldade e certamente não seria justa pois esqueceria de muitos. Por esse motivo, começo meus agradecimentos de uma maneira invertida do tradicional, “ora, senão não seria eu”. Agradeço a Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) por desde 2009 (graduação) está me acolhendo e sendo a porta para um universo inimaginável de descobertas e de conhecimentos. Foi aqui em Araras que tive a minha segunda casa. Depois agradeço a minha orientadora, Prof^ª Dr^ª Marcia Maria Rosa Magri, pelas deliciosas conversas, orientação, incentivo, compreensão, tranquilidade e como excelente professora que é, pelos desafios que me apresentou. A técnica Lúcia Terezinha Picollo da Silva (querida Lucinha), por ter sido meus segundos olhos, ouvidos e mãos em todo o período que estive no LAMAM (Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular) e principalmente, por ter me apoiado nas longas fases de dificuldade. Aos amigos que fiz no laboratório, Bete, Ariane e Neto por nossas risadas e troca de aprendizados. Aos professores do programa.

Agradeço a todos os meus amigos, que não conseguirei enumerar, por estarem comigo nessa longa estrada e por vários momentos, quase impossível de continuar. Que seguraram minhas mãos e algumas vezes até me puxaram para ter a oportunidade de estar escrevendo esse texto. Meu muito obrigado é pouco pelo que sinto de agradecimento. A Fernanda (Nanda) que gentilmente me ajudou incansavelmente nos meus experimentos, que me levava comida nos inúmeros finais de semana de experimentos, que me fez companhia no silêncio tedioso de espera do laboratório e que me fez rir muito com suas brincadeiras. Às minhas irmãs de alma, Marcia e Sheila, que estão sempre me incentivando, ajudando e me dando amor. A Neusinha, amiga querida sempre presente. A minha filha amada Adriane, minha alegria e orgulho, que me ajudou com sua inteligência, que me faz ficar perguntando, “ela veio mesmo de dentro de mim?”; pelo seu incentivo, ideias maravilhosas, colo de filha e por sempre ter acreditado em mim. A Cris por ter tido a paciência de me aguentar nos momentos de nervoso e por me achar mais inteligente do que realmente eu sou. A pessoa mais especial da minha vida, aquela que me deu a vida, que acredita em mim (presente, porque para mim ela ainda está comigo), e que no dia de sua passagem me perguntou das notas das disciplinas do mestrado: Dona Edith, minha mãe, exemplo de luta, coragem e amor, que incansavelmente repetia “se alguém nessa vida consegue, esse alguém é você minha filha!”. À você mãe, lhe dedico esse momento, porque com toda certeza, foi por você que não desisti nas dificuldades. Eternamente obrigada. E sempre a Deus, por ter me dado o presente de estar com todos esses que narrei nesse texto, por ter me dado a oportunidade de estar nesse mundo, e por ser o meu amparo e força.

SUMÁRIO

	Página
ÍNDICE DE QUADROS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT	iv
1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	03
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	04
3.1 Microbiota do solo.....	04
3.2 Microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV).....	06
3.3 Leveduras.....	09
3.4 Leveduras promotoras de crescimento vegetal.....	10
3.5 Milho (<i>Zea mays</i> L.)	12
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
4.1 Levedura avaliada.....	14
4.2 Preparo do inóculo da levedura	15
4.3 Milho (<i>Zea mays</i> L.).....	15
4.4 Avaliação do desenvolvimento inicial de milho em cultivo em tubo com vermiculita, inoculado com a levedura <i>T. globosa</i> (6S01) com adição ou não de glicose e/ou triptofano, em condições controladas.....	15
4.5 Análise estatística.....	20
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
6 CONSIDERAÇÕES.....	37
7 CONCLUSÕES.....	38
8 LITERATURA CITADA.....	39

ÍNDICE DE QUADROS

Página

Quadro 1. Descrição dos tratamentos utilizados no experimento com inoculação de <i>T. globosa</i> (6S01) nas sementes e/ou plantas de milho.....	19
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Sementes de milho em placa de Petri com papel filtro umedecido (foto do próprio autor).....	16
Figura 2. Semente de milho germinada. Detalhe da radícula, que foi utilizada como parâmetro para seleção das sementes que foram transferidas para o tubo com vermiculita. (Foto: Gabrielle Alves).....	17
Figura 3. Sementes germinadas após transferência para o tubo de ensaio com vermiculita umedecida com meio MS (foto do próprio autor).....	17
Figura 4. Suporte dos tubos, com a manutenção da vermiculita e sistema radicular no escuro (foto do próprio autor).....	18
Figura 5. Equipamento Fitotron, utilizado para incubação das plantas (foto do próprio autor).....	18
Figura 6. Plantas de milho após 7 dias de incubação, alcançando o limite do tubo (foto do próprio autor).....	20
Figura 7. Comprimento de raiz de milho para os tratamentos avaliados. A – Inoculação de <i>T. globosa</i> na concentração de 1×10^6 células/mL e B - inoculação de <i>T. globosa</i> na concentração de 1×10^3 células/mL de levedura <i>T. globosa</i> . As barras representam o erro padrão da média. Letras diferentes indicam que há diferença significativa entre as médias pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$). Tratamentos descritos na Tabela 1, pag. 19.....	22
Figura 8. Massa seca de raiz de milho para os tratamentos avaliados. A – Inoculação de <i>T. globosa</i> na concentração de 1×10^6 células/mL e B - inoculação de <i>T. globosa</i> na concentração de 1×10^3 células/mL de levedura <i>T. globosa</i> . As barras representam o erro padrão da média. Letras diferentes indicam que há diferença significativa entre as médias pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$). Tratamentos descritos na Tabela 1, pag. 19.....	23
Figura 9. A - Raízes das plantas que receberam adição de glicose (20 mg/L) no meio de cultura MS. (T3 – inoculação de semente e planta; T7 – inoculação de semente; T4 – inoculação de semente e planta e adição de triptofano; T8 – inoculação de semente e adição de triptofano; T11 – inoculação da planta; T14	24

– sem inoculação; T12 – inoculação de planta e adição de triptofano; T15 – adição de triptofano). B – Tratamentos que receberam apenas a adição de Triptofano (0,1%) no meio de cultura MS. (T2 - inoculação de semente e planta; T6 – inoculação de semente; T10 – inoculação da planta; T13 – sem inoculação). C - Tratamentos com melhores resultados de desenvolvimento radicular (T1, T5 e T9 – inoculação da levedura em semente e planta, somente semente e somente planta, respectivamente; T16 – tratamento controle). Plantas inoculadas com suspensão de 1×10^6 células/mL.

Figura 10. Detalhe do estufamento do filme plástico nos tratamentos inoculados com a levedura e com adição de glicose no meio..... 25

Figura 11. Comprimento da parte aérea de plantas de milho para os tratamentos avaliados. A – Inoculação de *T. globosa* na concentração de 10^6 células/mL e B - inoculação de *T. globosa* na concentração de 10^3 células/mL de levedura *T. globosa*. As barras representam o erro padrão da média. Letras diferentes indicam que há diferença significativa entre as médias pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$). Tratamentos descritos na Tabela 1, pag. 19..... 27

Figura 12. Massa seca da parte aérea de plantas de milho para os tratamentos avaliados. A – Inoculação de *T. globosa* na concentração de 10^6 células/mL e B - inoculação de *T. globosa* na concentração de 10^3 células/mL de levedura *T. globosa*. As barras representam o erro padrão da média. Letras diferentes indicam que há diferença significativa entre as médias pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$). Tratamentos descritos na Tabela 1, pag. 19..... 28

Figura 13. Comparação das concentrações de células avaliadas como inóculo na semente e planta, sem adição de glicose e/ou triptofano, no comprimento e massa seca da raiz e parte aérea. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os parâmetros de raiz, e letras minúsculas indicam diferença estatística entre os parâmetros de parte aérea pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$)..... 30

Figura 14. Comparação das concentrações de células avaliadas com o inóculo na semente, sem adição de glicose e/ou triptofano, no comprimento e massa seca da raiz e parte aérea. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença 31

estatística entre os parâmetros de raiz, e letras minúsculas indicam diferença estatística entre os parâmetros de parte aérea pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$).....

Figura 15. Comparação das concentrações de células avaliadas como inóculo na planta, sem adição de glicose e/ou triptofano, no comprimento e massa seca da raiz e parte aérea. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os parâmetros de raiz, e letras minúsculas indicam diferença estatística entre os parâmetros de parte aérea pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$).....

32

Figura 16. Comprimento e massa seca da raiz e parte aérea de plantas de milho para os tratamentos avaliados – inoculação ou não de *T. globosa* na concentração de 10^6 células/mL e adição ou não de triptofano. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os parâmetros de raiz, e letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os parâmetros da parte aérea pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$).....

35

Figura 17. Comprimento e massa seca da raiz e parte aérea de plantas de milho para os tratamentos avaliados – inoculação ou não de *T. globosa* na concentração de 10^3 células/mL e adição ou não de triptofano. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os parâmetros de raiz, e letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os parâmetros da parte aérea pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$).....

36

AValiação DO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE MILHO INOCULADO COM A LEVEDURA RIZOSFÉRICA *Torulaspora globosa* (6S01) EM CONDIÇÕES CONTROLADAS

Autor: PATRÍCIA HERRMANN CORRÊA

Orientador: Profa. Dra. MÁRCIA MARIA ROSA MAGRI

RESUMO

Micro-organismos Promotores de Crescimento Vegetal (MPCV) estimulam o desenvolvimento das plantas por diferentes mecanismos, como a produção de hormônios vegetais e solubilização de minerais. A espécie *Torulaspora globosa*, isolada da rizosfera da cana de açúcar e milho, mostrou-se efetiva para produção de ácido indolacético e ácidos orgânicos capazes de solubilizar minerais, como o fosfato, com potencial para estimular o crescimento vegetal. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da levedura *T. globosa* (linhagem 6S01) e adição de glicose e/ou triptofano, no desenvolvimento inicial de milho em condições controladas. Foram avaliados 16 tratamentos, com duas concentrações, sendo 10^6 e 10^3 células/mL avaliadas em tempos diferentes, variando em cada uma a inoculação em semente e/ou planta, e adição de glicose e/ou triptofano, com seis repetições por tratamento. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. A concentração de glicose (20 g/mL) e a concentração do triptofano (0,1%). A avaliação ocorreu pelos parâmetros de comprimento da parte aérea e da raiz e massa seca da parte aérea e raiz. Observou-se que a adição de glicose nos tratamentos de inoculação de levedura promoveu o prejuízo no desenvolvimento inicial da planta, de ambas concentrações. O triptofano favoreceu o aumento da massa seca da raiz, na inoculação na semente e planta ou na semente na menor concentração de células e na concentração 10^6 cel/mL quando houve inoculação da semente. O inóculo na concentração de 10^6 cel/mL proporcionou melhores resultados, porém igual estatisticamente ao controle, exceto na avaliação da parte aérea do milho nos tratamentos de inoculação semente e planta e a massa seca da parte aérea, também sem diferença estatística com o controle. Esse é um estudo inédito, porém preliminar, uma vez que foi realizado em condições controladas, e apenas com análise do desenvolvimento inicial da planta de milho. Os resultados obtidos são promissores e motivam estudos mais aprofundados, com o emprego da inoculação das plantas em solo não estéril, em casa de vegetação e no campo.

Palavras Chave: Leveduras; *Torulaspora globosa*; microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV); bioestimuladores.

EVALUATION OF INITIAL DEVELOPMENT OF MAIZE INOCULATED WITH RHIZOSPHERE YEAST *Torulaspora globosa* (6S01) IN CONTROLLED CONDITIONS

Author: PATRÍCIA HERRMANN CORRÊA

Adviser: Profa. Dra. MÁRCIA MARIA ROSA MAGRI

ABSTRACT

Plant Growth Promoter Microorganisms (PGPMs) stimulate the development of plants by different mechanisms, such as the production of plant hormones and solubilization of minerals. The species *Torulaspora globosa*, isolated from the rhizosphere of sugar cane and maize, proved effective for the production of indoleacetic acid and organic acids capable of solubilizing minerals, such as phosphate, with potential to stimulate plant growth. The objective of this work was to evaluate the effect of *T. globosa* yeast (6S01 strain) and addition of glucose and/or tryptophan in the initial development of corn under controlled conditions. Sixteen treatments were evaluated, with 10^6 and 10^3 cells/mL being evaluated at different times, each inoculating in seed and/or plant, and adding glucose and/or tryptophan, with six replicates per treatment. The experimental design was a completely randomized design. The concentration of glucose (20 g/mL) and the concentration of tryptophan (0.1%). The evaluation was carried out by the parameters of shoot length and root and dry mass of shoot and root. It was observed that the addition of glucose in the yeast inoculation treatments promoted the damage in the initial development of the plant of both concentrations. Tryptophan favored the increase of the root dry mass, inoculation of the seed and plant or the seed in the lowest concentration of cells and the concentration of 10^6 cells / mL when inoculating the seed. The inoculum at the concentration of 10^6 cells / mL gave better results, but was statistically similar to the control, except for the evaluation of the aerial part of the corn in the treatments of seed and plant inoculation and the dry mass of the aerial part, also without statistical difference with the control. This is an unprecedented but preliminary study, since it was carried out under controlled conditions, and only with analysis of the initial development of the corn plant. The results obtained are promising and motivate further studies, with the use of inoculation of the plants in non-sterile soil, greenhouse and in the field.

Keywords: Yeasts; *Torulaspora globosa*, plant growth promoting microorganisms (PGPMs); biostimulators.

1 INTRODUÇÃO

O solo é um ambiente complexo que apresenta uma diversidade microbiana bastante elevada, caracterizada por diferentes tipos funcionais que em equilíbrio são fundamentais a diferentes processos, como na ciclagem de nutrientes, proteção e auxílio ao desenvolvimento vegetal (BALDRIAN, 2016).

O modelo de agricultura atual emprega uma grande quantidade de compostos químicos, como defensivos e fertilizantes minerais, que resultam no rompimento do equilíbrio do ecossistema edáfico e como consequência diminui a biodiversidade do solo e sua capacidade de resiliência (LAMICHHANE et.al., 2016; NUROLITA et al., 2016). Neste contexto, a utilização de microrganismos capazes de proteger e auxiliar o desenvolvimento dos vegetais se apresenta como uma alternativa na busca de uma produção agrícola mais sustentável.

Microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV) estão sendo amplamente estudados, pois apresentam a habilidade de produzir compostos capazes de estimular o desenvolvimento vegetal por meio de diferentes mecanismos, como produção de fitormônios, promoção do controle biológico de fitopatógenos e indução de resistência vegetal, além da solubilização de fosfatos e disponibilização de nutrientes para o solo, promovendo uma melhor nutrição para as plantas (GRAY; SMITH, 2005; SALANTUR et al., 2006; EGAMBERDIYEVA, 2007).

Dentre esses microrganismos, as leveduras se apresentam como um grupo com alto potencial para serem utilizadas como microrganismos promotores de crescimento vegetal. Leveduras são fungos unicelulares que podem ser encontrados na rizosfera das plantas produzindo uma variedade de compostos ativos (IGNATOVA et al., 2015). Dentre os mecanismos observados de estímulo ao desenvolvimento vegetal pelas leveduras, verifica-se a produção de fitormônios, solubilização de minerais e controle biológico (FU et al., 2016; MESTRE et al., 2016).

Rosa (2009) estudando uma linhagem de *Torulaspora globosa* isolada da rizosfera da cana-de-açúcar, observou potencial para controle biológico de fitopatógenos contra fungos causadores de antracnose em milho e sorgo. Durante a caracterização da espécie, testes também apontaram a capacidade da levedura em produzir compostos de estímulo ao crescimento vegetal, como ácido indolacético e ácidos orgânicos capazes de solubilizar minerais potássicos e fosfato de cálcio (DILARRI et al., 2012; ROSA-MAGRI et al., 2012).

Funções relacionadas ao crescimento vegetal têm sido atribuídas às leveduras encontradas no ambiente, no entanto, devido a sua baixa concentração no solo em relação a outros grupos microbianos, como bactérias e fungos filamentosos, há uma maior escassez de estudos direcionadas ao conhecimento do seu potencial como microrganismo promotor de crescimento vegetal.

Dessa forma, o desafio nesta área é justamente expandir o conhecimento sobre a relação planta-levedura a fim de investigar o seu potencial como microrganismo promotor de crescimento vegetal visando a sustentabilidade agrícola, e assim, contribuir para o equilíbrio dos ecossistemas, minimizando a aplicação de adubos químicos e fungicidas, os quais possuem grande potencial de poluição do meio ambiente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o desenvolvimento inicial de milho oriundas da inoculação com a levedura rizosférica *Torulaspora globosa* (linhagem 6S01) em condições controladas.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar as plantas em desenvolvimento inicial, oriundas de sementes de milho desinfetadas e inoculadas com células de levedura rizosférica *Torulaspora globosa* (linhagem 6S01) em condições controladas;
- Avaliar a inoculação das plantas de milho em condições controladas, em desenvolvimento inicial, com células de levedura rizosférica *Torulaspora globosa* (linhagem 6S01) e avaliar o seu desenvolvimento inicial;
- Avaliar o desenvolvimento inicial de plantas milho inoculadas e/ou oriundas de sementes inoculadas, com diferentes concentrações de células da levedura rizosférica *Torulaspora globosa* (linhagem 6S01), em condições controladas;
- Tratar as plantas de milho recém germinadas, com glicose (20 g/mL) e/ou triptofano (0,1%), e avaliar o desenvolvimento inicial de plantas inoculadas ou não com células de *Torulaspora globosa* (linhagem 6S01) em condições controladas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Microbiota do solo

O solo é um ecossistema dinâmico, considerado o principal reservatório da diversidade biológica (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). É constituído por componentes bióticos e abióticos. Os componentes bióticos abrangem raízes de plantas, populações de microrganismos e animais invertebrados, enquanto que a porção abiótica corresponde a água, matéria orgânica e fragmentos de rocha (CORREIA; OLIVEIRA, 2000; VORONEY, 2007; CANO, 2011).

Conforme Correia e Oliveira (2000), as características de um solo, bem como a sua qualidade são determinadas em grande parte pelos organismos nele presentes. A estruturação do solo ocorre de maneira heterogênea e descontínua, possibilitando a ocorrência de micro-habitats que irão variar entre si em função das suas características físicas e químicas e da disponibilidade de nutrientes (MOREIRA; SIQUEIRA 2006).

Tanto os microrganismos como a fauna presente no solo são capazes de modificar suas propriedades físicas, químicas e biológicas (PANKHURST; LYNCH, 1994). Eles podem agir em processos como decomposição e ciclagem de nutrientes

ou atuar na textura e estrutura do solo, bem como na sua capacidade de retenção de água (CARDOSO et al., 1992; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SANTOS et al., 2008). Por outro lado, a biota é afetada pela vegetação que determina em grande parte o estabelecimento da comunidade da fauna de solo, sendo um reflexo do manejo empregado (CORREIA; OLIVEIRA, 2005).

Diversos são os microrganismos presentes no solo, tais como, eubactérias, arqueobactérias, fungos, protozoários, vírus e invertebrados microscópicos, como nematóides e ácaros constituindo uma enorme diversidade genética e desempenhando funções únicas e essenciais na manutenção dos agroecossistemas (MADIGAN et al., 2004; SAHARAN; NEHRA, 2011; OLIVEIRA, 2016). Bactérias e fungos estão associados a diversos mecanismos de síntese e degradação do solo promovendo a mineralização de compostos orgânicos e liberação de nutrientes (HUNGRIA, URQUIAGA, 1992). Tão logo são considerados organismos vitais na construção solo, pois oferecem suporte físico e nutricional para as culturas agrícolas (ARAÚJO; HUNGRIA, 1994).

De acordo com Cardoso e Andreote (2016) o solo é um ambiente oligotrófico (baixa disponibilidade de nutrientes), mas apresenta a ocorrência de “*hot spots*”, que correspondem a zonas com elevada atividade biológica devido à presença de fontes nutricionais disponíveis, como regiões de acúmulo de matéria orgânica e as frações do solo mais próximas à raiz das plantas, conhecidas como rizosfera.

A rizosfera pode ser definida como a região do solo que é influenciada pela raiz da planta, ambiente rico em nutrientes e conseqüentemente em microrganismos (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Os microrganismos residentes na rizosfera podem beneficiar ou prejudicar a planta e assim influenciar diretamente o desenvolvimento das culturas (BARRET et al., 2011). Complexos mecanismos adaptativos vêm sendo desenvolvidos pelas plantas evolutivamente, muitos destes somente possíveis, graças às interações com os microrganismos, cujas interações ocorrem principalmente na rizosfera (PEIXOTO NETO; AZEVEDO; CAETANO, 2004; WENTZEL, 2017).

De acordo com Saharan e Nehra (2011) os microrganismos que colonizam a rizosfera podem ser classificados de acordo com os seus efeitos nas plantas e a forma como interagem com as raízes, alguns sendo patógenos enquanto outros desencadeando efeitos benéficos. A estimulação do crescimento microbiano presente na rizosfera ocorre através de exsudatos orgânicos que são secretados pelas raízes

das plantas (MOE, 2013; WESTON; MATHESIUS, 2013; BERG et al., 2014). Conforme Bais et al. (2004) por meio da exsudação de uma grande variedade de compostos as raízes podem regular a comunidade microbiana do solo, resistir à herbívoros, promover simbioses benéficas, alterar as características químicas e físicas do solo e inibir o crescimento de outras espécies de plantas. Os inúmeros processos que ocorrem nesta região são cruciais para a saúde da planta e influenciam diretamente o ecossistema como um todo (BERG; SMALLA, 2009; RIBEIRO; CARDOSO, 2012). Além disso, Avila (2007) ressalta que os microrganismos que habitam a rizosfera têm sido bastante estudados porque, nesse habitat, a atividade microbiana, a quantidade e o tipo de exsudados são diferentes do solo não rizosférico, acarretando uma maior diversidade de populações de bactérias, fungos, protozoários e nematóides.

De modo geral os microrganismos presentes no solo estão envolvidos em diversos processos de interesse agrônomo, como fixação biológica de nitrogênio, transformações dos compostos fosfatados, alteração da disponibilidade e toxicidade de metais às plantas, produção de fitormônios, solubilização de minerais do solo e ação antagonista aos fitopatógenos; podem atuar como reguladores de nutrientes, pela decomposição e re-síntese da matéria orgânica e na ciclagem dos nutrientes (GLICK, 1995; BERTON et al., 1997; BURD et al., 2000; VITOUSEK et al., 2002; SILVEIRA; FREITAS, 2007). Além disso, a comunidade microbiana pode auxiliar na tolerância à alta salinidade e à seca que interferem no desenvolvimento e na produtividade das plantas (CASTIGLIONI et al., 2008; ZHANG et al., 2008).

3.2 Microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV)

Inúmeras são as estratégias utilizadas para promover o crescimento das plantas. As técnicas incluem preparo do solo e manejo das florestas, melhoramento das plantas através de cruzamentos entre as espécies e utilização da engenharia genética (ROSSI, 2006). Outra interessante tecnologia é a utilização de microrganismos promotores de crescimento vegetal (LUZ; LANE; SILVA, 2006).

Microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV) são considerados estimuladores, diretos ou indiretos, do crescimento das plantas. Esses organismos encontram-se em habitats naturais colonizando, de forma interna e externa, órgãos de plantas (MARIANO et al., 2004; ALBERTINI, 2017).

Conforme Gomes et al. (2016), o papel benéfico da comunidade microbiana na promoção do crescimento das plantas pode ocorrer na forma direta com a produção de compostos que nutrem ou facilitam a entrada de certos nutrientes para as plantas, como fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfatos, aumento da área de absorção das raízes, produção de fitormônios e de compostos orgânicos voláteis que estimulam o desenvolvimento vegetal; de forma indireta, esse grupo microbiano pode atuar na proteção das plantas contra fitopatógenos (DI-FIORE; DEL-GALLO, 1995; BOTTINI et al., 2004). Os MPCV também afetam a divisão e diferenciação celular da planta, por consequência causam mudanças na arquitetura do sistema radicular, o que contribui para o aumento do crescimento de brotações. Essas modificações são estabelecidas alterando as vias de sinalização endógenas nas plantas (VERBON; LIBERMAN, 2016).

De acordo com Gomes et al. (2016), dentro do grupo conhecido como microrganismos promotores de crescimento de plantas, destacam-se as bactérias gram-negativas dos gêneros *Azospirillum*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* e *Rhizobium* e alguns gêneros gram-positivos, como *Bacillus* e *Paenibacillus*. Os autores também ressaltam que algumas características como motilidade, quimiotaxia, crescimento, aderência e resistência a estresses contribuem para a sobrevivência desses microrganismos na rizosfera, e no sucesso na colonização dos tecidos internos das plantas.

Um dos principais macronutrientes limitante da produtividade de plantas é o nitrogênio (N) que se encontra na forma não assimilável no solo (WILLIAMS; MILLER, 2001; MALAVOLTA, 2006; OKUMURA et al., 2011). A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é um processo pelo qual o nitrogênio atmosférico é transformado por bactérias fixadoras de nitrogênio associadas à raízes em sua forma assimilável. Isso é possível porque esses microrganismos produzem a enzima nitrogenase, caracterizada como um complexo enzimático, responsável pela quebra da ligação tríplice usando energia celular na forma de adenosina trifosfato (ATP) (BALDANI et al., 2002; SAHARAN; NEHRA, 2011).

O fósforo também é um macronutriente essencial que precisa ser transformado para ser utilizado pelas plantas. A solubilização é uma alternativa para a transformação de fosfatos inorgânicos em fosfatos solúveis. Diversos microrganismos do solo, incluindo bactérias e fungos, possuem capacidade de solubilizar fosfatos por

meio de diferentes mecanismos, especialmente pela produção de ácidos (KUCEY, 1983; NAHAS, 1999; WHITELAW, 2000).

A utilização de microrganismos como agentes de controle biológico também é amplamente estudada. Bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* e *Agrobacterium*, por exemplo, são capazes de suprimir doenças em plantas pela indução de resistência sistêmica e produção de sideróforos ou antibióticos (SAHARAN; NEHRA, 2011).

Outro mecanismo que favorece o crescimento das plantas é a produção de fitormônios. Os hormônios vegetais (auxinas, citocininas, giberelinas etileno e ácido abscísico) são reguladores naturais de crescimento das plantas, influenciando os processos fisiológicos em baixas concentrações (RAVEN et al., 2001).

Dentre os principais fitormônios relacionados ao crescimento vegetal, destaca-se o grupo das auxinas. A auxina é um hormônio, produzido pelas plantas, que apresenta funções relacionadas ao alongamento e divisão celular, tem como principal representante o ácido indolacético (AIA) (TAIZ; ZEIGER, 2004). O efeito do ácido indolacético é promover o crescimento de raízes e caules, através do alongamento das células recém-formadas nos meristemas. Também estimula a germinação das sementes, faz a mediação das respostas à luz, gravidade e florescimento, influencia na fotossíntese, na biossíntese de vários metabólitos e na resistência a condições de estresse (TSAVKELOVA et al., 2007; GLICK, 2012).

Vários microrganismos como bactérias, fungos, leveduras e algas são capazes de sintetizar e excretar AIA, a partir do triptofano como precursor. Uma das formas mais comuns de conversão do triptofano em AIA é pela rota do ácido indolpirúvico (CAMILLERI; JOUANIN, 1991; PATTEN; GLICK, 1996). Algumas espécies também têm o precursor da triptamina, enquanto o precursor da indolacetaldoxima é característico da família Brassicaceae (ALBERTINI, 2017).

Exemplos de microrganismos produtores de AIA incluem bactérias como *Bacillus amyloliquefaciens*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, entre outras (KUSS et al., 2007; TSAVKELOVA et al., 2007; CHAGAS et al., 2009; SHAO et al., 2015; LIU et al., 2016), leveduras do gênero *Williopsis* e *Torulaspota* (FU et al., 2016; NASSAR et al., 2005) e fungos filamentosos (RINCÓN et al., 2003; MAOR et al., 2004). Deste modo, microrganismos produtores de hormônios vegetais contribuem para o desenvolvimento das plantas atuando na resposta a fatores bióticos e abióticos (SAHARAN; NEHRA, 2011).

Outra estratégia é a utilização de MPCV como agentes de biocontrole em sementes. O tratamento de sementes é uma das recomendações para conter a transmissão de doenças, além de contribuir para maior densidade de plantas na lavoura, uma vez que a utilização de fungicidas sintéticos tem sido questionada devido ao uso excessivo levando ao aumento dos custos de produção, bem como da contaminação do meio ambiente (CORRÊA et al., 2008; VINALE et al., 2008).

Além disso, estudos de MPCV como inoculante em sementes tem se demonstrado promissor quanto aos parâmetros de produção, pois os mesmos contribuem com o aumento de peso de raízes e brotações, altura de plântulas, área foliar e teor de clorofila em feijão (TOZLU et al., 2012), trigo (OZTURK et al., 2003; SALANTUR et al., 2006; BULUT, 2013), soja (CATTELAN et al., 1999), beterraba (CAKMAKCI et al., 2006) e milho (EGAMBERDIYEVA, 2007; GHOLAMI et al., 2009). Essa associação favorável ao desenvolvimento da planta foi explicada principalmente pela capacidade de fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção de fitormônios (GHOLAMI et al., 2009, CONG et al., 2009).

Dado os benefícios que os microrganismos promovem às plantas, os MPCV apresentam-se como uma tecnologia com grande potencial que necessita ser explorada e desenvolvida. A inoculação de microrganismos com capacidade de promover o crescimento vegetal e/ou que atuam como agentes de controle biológico de pragas e doenças pode ser uma alternativa sustentável para utilização na agricultura (MENDES et al., 2013; CABRINI, 2018).

3.3 Leveduras

Leveduras são organismos unicelulares pertencentes em sua maioria ao filo Ascomycota (BOTHÁ, 2011). Apresentam como características presença de parede celular, núcleo organizado com membrana nuclear, nutrição heterotrófica, reprodução sexuada através de células especializadas denominadas esporos, ausência de pigmentos fotossintetizantes e motilidade (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Conforme Albertini (2017), para obtenção de energia, as leveduras dependem de fontes de carbono orgânico, sendo assim os carboidratos são os nutrientes de importância maior. Açúcares simples como a glicose, frutose e manose são assimiladas pela maioria das espécies estudadas, enquanto alguns oligossacarídeos, polissacarídeos, ácidos orgânicos, pentoses, tetroses, hidrocarbonetos e lipídeos são utilizados seletivamente por algumas espécies.

Historicamente estão associadas a processos fermentativos e substratos que contenham hexoses (açúcares). Deste modo possuem ampla utilização e importância na produção de etanol combustível, fermentação de bebidas alcoólicas e na produção de fermento para pães (NASCIMENTO et al., 2018). A espécie *Saccharomyces cerevisiae* é uma das mais estudadas e empregada em diversos processos biotecnológicos (PELCZAR, 1997).

A distribuição das leveduras no ambiente é bastante ampla, podendo ser encontrada em flores, folhas, solo, frutos, ar, lagos, rios, mares e em associações com insetos (KURTZMAN; FELL, 1998; BOTHA, 2011). Oliveira (2016) ressalta que apesar das leveduras serem encontradas em menor quantidade na rizosfera das plantas, se comparadas às rizobactérias e fungos filamentosos, as que habitam o ambiente edáfico apresentam potencial para promover o crescimento vegetal.

Os mecanismos de promoção do crescimento desses microrganismos nas plantas são pela produção de fitormônios de crescimento (XIN et al., 2009), no auxílio à nutrição da planta, através da solubilização de minerais (ROSA-MAGRI et al., 2012), na produção de sideróforos (WANG; CHI, 2009) e no controle biológico de fitopatógenos (ROSA et al., 2010).

3.4 Leveduras promotoras de crescimento vegetal

Estudos têm demonstrado a capacidade das leveduras em produzir compostos bioativos importantes para as plantas, tais como fitormônios, aminoácidos, enzimas e vitaminas. Também são capazes de solubilizar macronutrientes como fósforo e cálcio, tornando-os disponíveis para as plantas (FU et al., 2016; MESTRE et al., 2016).

As leveduras possuem algumas adaptações vantajosas que permitem sobreviver a uma ampla gama de condições ambientais, inclusive a competições existentes na microbiota do solo. As espécies de *Candida* crescem rapidamente consumindo açúcares simples e podem fazer fermentação anaeróbica, que se torna útil quando o solo está cheio de água e ausente de oxigênio (YURKOV, 2016). Algumas espécies de leveduras utilizam derivados da hemicelulose como fonte de alimento, já outras assimilam intermediários da degradação da lignina, como ácidos ferúlico, 4-hidroxibenzóico e vanílico (MESTRE et al., 2011; YURKOV, 2016).

Há ainda espécies que conseguem crescer em meios com baixa concentração de nutrientes (KIMURA et al., 1998). Destaca-se como adaptação vantajosa para leveduras do solo, a capacidade de crescer em solos com oligotrofia de nitrogênio, o

que permite a colonização em diversos substratos (BOTHA, 2011). Essa adaptação é importante porque cerca de 96-98% do nitrogênio do solo é matéria orgânica como complexos insolúveis, como a quitina, proteínas e ácidos (VAN DER HEIJDEN et al., 2008).

Como auxílio em defesa da planta, foi relatado que as leveduras reduzem as taxas de doenças das plantas (BOTHA, 2011; FU et al., 2016). A literatura descreve que diferentes espécies de leveduras mostraram mecanismos diferentes do antagonismo em direção ao crescimento de fungos patógenos radiculares (EL-TARABILY; SIVASITHAMPARAM, 2006; BOTHA, 2011).

Quanto à promoção de crescimento, estudos sugerem que a síntese de AIA é frequente entre as leveduras (EL-TARABILY; SIVASITHAMPARAM, 2006; LIMTONG; KOOWADJANAKUL, 2012; STRELETSKII et al., 2016). Poder utilizar de microrganismos produtores de AIA como inoculantes agrícolas é vantajoso em relação à utilização de fitormônios sintéticos que possuem custos elevados (TSAVKELOVA et al., 2006). Nassar et al. (2005) verificou aumento no crescimento de plantas de milho com a inoculação da levedura *Cyberlindnera saturnus* devido a indução de AIA por ela produzido. Xin et al. (2009) identificou três isolados de leveduras endofíticas das espécies *Rhodotorula graminis* e *Rhodotorula mucilaginosa* que foram obtidas de caules de álamos do gênero *Populus*, como produtoras de auxinas *in vitro*.

Nutaratat et al. (2014) estudando isolados de levedura obtidos a partir do arroz e cana-de-açúcar verificaram que as leveduras das espécies *Cryptococcus flavus*, *Rhodosporidium paludigenum*, *Hannaella sinensis* e *Torulaspota globosa*, foram capazes de produzir AIA, além de apresentar atividade de catalase. Os autores também observaram que *T. globosa* apresentou antagonismo com patógenos fúngicos através da produção de compostos antifúngicos voláteis. Fu et al. (2016) observaram a produção de AIA por diversos gêneros de leveduras isolados de *Drosera spatulata*, como *Aureobasidium*, *Candida*, *Dothideomycetes*, *Hanseniaspora*, *Saccharomyces* e *Torulaspota*. Também observaram a produção de sideróforos por *Pseudozyma*, *Saccharomyces* e *Torulaspota* que também se destacaram pela capacidade de solubilizar fosfato bicálcico e fosfato tricálcico.

Rosa (2009) isolou da rizosfera da cana-de-açúcar uma linhagem da espécie *Torulaspota globosa*, e avaliou seu potencial no controle biológico de fitopatógenos, observando resultados favoráveis contra fungos causadores de antracnose em milho e sorgo. Durante a caracterização da espécie, testes apontaram que esta levedura é

capaz de produzir compostos que estimulam o crescimento vegetal, como ácido indolacético e ácidos orgânicos capazes de solubilizar minerais potássicos e fosfato de cálcio (DILARRI et al., 2012; ROSA-MAGRI et al., 2012).

3.5 Milho (*Zea mays* L.)

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie que pertence à família Poaceae, nativa da América Central e México. É cultivado em praticamente todas as regiões agrícolas do mundo sendo utilizado como fonte de carboidratos e energia tanto para a alimentação humana quanto animal (BORÉM; GIUDICE, 2004).

Diversos fatores alteram o desenvolvimento da cultura do milho, como água, fotoperíodo e temperatura. A produtividade também é muito influenciada pela baixa fertilidade dos solos, principalmente pela deficiência de nitrogênio (MAGALHAES et al., 2002). De acordo com Gomes et al. (2016), a comunidade bacteriana encontrada na rizosfera do milho é intensivamente investigada por uma série de estratégias, tendo como objetivo melhorar sua produtividade e resistência a estresses bióticos e abióticos.

Os gêneros mais comumente encontrados na rizosfera de milho são *Burkholderia*, *Pantoea*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Massilia*, *Sphingobium*, *Sphingomonas*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Ochrobactrum* (JOHNSTON-MONJE et al., 2016). Entre os grupos de bactérias e fungos associados à disponibilização de P no solo destacam-se os gêneros *Bacillus*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Enterobacter*, *Mesorhizobium*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Penicillium* e *Aspergillus* (MARRA, 2012).

Picard e Bosco (2005) observaram produção de AIA por rizobactérias do gênero *Pseudomonas* isoladas de milho. Sendo relatado que nas raízes das plantas híbridas houve aumento da colonização de *Pseudomonas* AIA positivas, demonstrando uma superioridade dos híbridos em comparação às linhagens parentais para o recrutamento de bactérias benéficas. Produção de AIA *in vitro* foi observada por Nassar et al. (2005), pela levedura endofítica *Williopsis saturnus*, isolada da raiz de milho, que também promoveu o crescimento das raízes e dos brotos de plântulas quando inoculadas em sementes de milho.

Nakayan et al. (2013) investigaram as leveduras *Meyerozyma guillermondii* (CC1), *Rhodotorula mucilaginosa* (CC2) e *Meyerozyma caribbica* (CC3), isoladas de solo quanto às suas atividades de promoção de crescimento de milho. Os autores

observaram produção de AIA e solubilização de P em testes *in vitro*, aumento do vigor de sementes, aumento do peso seco e absorção de nutrientes em casa de vegetação. No campo, observaram efeito positivo sobre o crescimento do milho, rendimento de sabugo, absorção de nutrientes e contagem microbiana do solo rizosférico.

Como relatado, os microrganismos podem interagir de diferentes formas com as plantas, funcionando coletivamente como um microbioma (GOMES et al, 2016). Dentre estes, muitas funções têm sido atribuídas às leveduras encontradas no ambiente, no entanto, devido a sua baixa concentração no solo em relação a outros grupos microbianos, como bactérias e fungos filamentosos, há uma maior escassez de estudos direcionadas ao conhecimento do seu potencial como microrganismo promotor de crescimento vegetal. Diante do exposto faz-se importante investigar o potencial de leveduras como microrganismos promotores de crescimento vegetal visando a sustentabilidade dos sistemas agrícolas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Levedura avaliada

Para os ensaios, foi utilizada a linhagem de levedura *Torulaspota globosa* (linhagem 6S01), isolada da rizosfera de milho (ALBERTINI, 2017; ROCHA, 2017), e pertence ao banco de microrganismos do Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (LAMAM), da Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, campus de Araras/SP. A linhagem foi selecionada por ser produtora de ácido indol acético (AIA) (ALBERTINI, 2017), e solubilizadora de fosfato tricálcico (ROCHA, 2017), ambos mecanismos relacionados a promoção de crescimento vegetal.

Esta linhagem vem sendo mantida em tubos de ensaio com meio inclinado YEPD (10 g.L⁻¹ extrato de levedura. 20 g.L⁻¹ peptona. 20 g.L⁻¹ dextrose e 15 g.L⁻¹ ágar), cobertas com óleo mineral, em geladeira a 8°C.

4.2 Preparo do inóculo da levedura

Para o preparo do inóculo de levedura, esta foi repicada em placas de Petri com meio YEPD e incubada a 25°C até o desenvolvimento das colônias. Uma alçada de células das colônias crescidas foi transferida para Erlenmeyers de 125 mL com 50 mL de meio YEPD líquido, sob agitação de 160 rpm, a 25°C por 48h. Após esse tempo, o conteúdo dos Erlenmeyers foi centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos; o sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em solução salina (NaCl 0,85%). Foi executado o teste de viabilidade antes da contagem das células, que foi realizada em câmara de Neubauer e padronizada de acordo com o experimento.

4.3 Milho

As sementes de milho utilizadas nos experimentos pertencem a variedade AL Piratininga – CATI (Coordenadoria de Assistência Técnica Integral), Peneira 22-L, categoria S2, Safra: 13/14, Lote: PA-007/14, germinação – 85%.

A variedade tem como principais características o ciclo semi-precoce (135-145 dias), resistência moderada a doenças, destaca-se na safrinha, é recomendada para solos de baixa a alta fertilidade, apresenta rusticidade e adaptabilidade a diversos ambientes, e é excelente como opção para produção de silagem (CATI, s.d.). A variedade foi cedida ao laboratório para pesquisa, e foi escolhida para os ensaios por ter apresentado alta taxa de germinação nas condições experimentais propostas neste trabalho.

As sementes foram armazenadas em geladeira a 8°C até o momento da utilização. Para os experimentos, as sementes foram desinfetadas através de imersão em solução de hipoclorito de sódio 2% por 20 minutos. Em seguida as sementes foram lavadas com água destilada estéril várias vezes para remoção do excesso de cloro e deixadas para secar ao ar, dentro da câmara de fluxo laminar.

4.4 Avaliação do desenvolvimento inicial de milho em cultivo em tubo com vermiculita, inoculado com a levedura *T. globosa* (6S01) com adição ou não de glicose e/ou triptofano, em condições controladas.

Sementes de milho desinfetadas foram inoculadas com a imersão destas em suspensão de células da levedura *T. globosa*, na concentração de 1×10^3 células/mL. A suspensão celular foi preparada em solução salina com adição de tween a 0,1%. As

sementes foram mantidas imersas e sob agitação de 150 rpm por 20 minutos a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), para possibilitar maior contato entre as sementes e as células da levedura. Foram consideradas como tratamento controle, sementes imersas em solução salina e tween, e mantidas nas mesmas condições descritas acima. Após o tratamento, as sementes foram colocadas para germinar em placa de Petri com papel filtro estéril umedecido (6 sementes por placa) (Figura 1). As placas foram incubadas em BOD a 25°C por 3 dias no escuro. Após a germinação, as sementes com radículas de tamanho semelhante (Figura 2), foram selecionadas com o objetivo de padronizar o tamanho das plantas, dentro do tratamento (sementes inoculadas ou sementes não inoculadas).



Figura 1. Sementes de milho em placa de Petri com papel filtro umedecido (foto do próprio autor).

As sementes selecionadas foram transferidas para tubo de vidro (5 x 30 cm) com 100 mL de vermiculita estéril, umedecida com 70 ml de meio de cultura MS (meio comercial M5519 da empresa Sigma-Aldrich) estéril (Figura 3). O meio MS recebeu a adição de glicose (20 g/L) foi constante e definida com base na porcentagem da mesma no meio YEPD, comumente e utilizado para o crescimento das colônias de leveduras, e/ou triptofano (0,1%) (NUTARAT et al, 2015) também constante, além de nova inoculação de 1 mL de suspensão de células da levedura (1×10^3 células/mL), de acordo com cada tratamento (Quadro 1). O tubo foi fechado com filme plástico para impedir a contaminação do seu interior.

Os tubos foram mantidos, durante a incubação, em uma base protegida da exposição da luz, simulando a condição da raiz no solo (Figura 4). Os tubos foram incubados em fitotron (Figura 5), por 12 dias a 27°C (\pm 2°C) e fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 16 tratamentos, como descrito no Quadro 1, e seis repetições por tratamento.



Figura 2. Semente de milho germinada. Detalhe da radícula, que foi utilizada como parâmetro para seleção das sementes que foram transferidas para o tubo com vermiculita. (Foto: Gabrielle Alves).

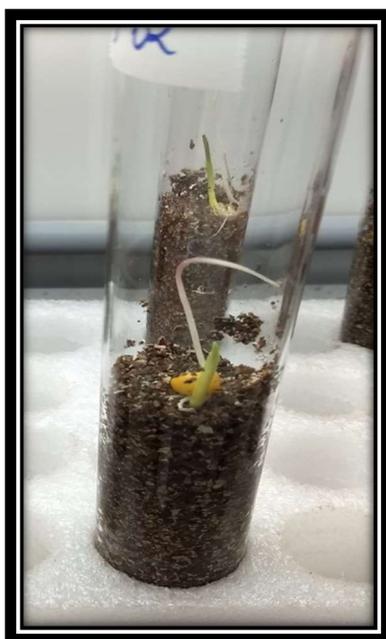


Figura 3. Sementes germinadas após transferência para o tubo de ensaio com vermiculita umedecida com meio MS (foto do próprio autor).



Figura 4. Suporte dos tubos, com a manutenção da vermiculita e sistema radicular no escuro (foto do próprio autor).



Figura 5. Equipamento Fitotron, utilizado para incubação das plantas (foto do próprio autor).

Quadro 1. Descrição dos tratamentos utilizados no experimento com inoculação de *T. globosa* (6S01) nas sementes e/ou plantas de milho.

Tratamento	Inoculação Semente	Inoculação Planta	Triptofano (0,1%)	Glicose (20 g/L)
T1	Presente	Presente	Ausente	Ausente
T2	Presente	Presente	Presente	Ausente
T3	Presente	Presente	Ausente	Presente
T4	Presente	Presente	Presente	Presente
T5	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
T6	Presente	Ausente	Presente	Ausente
T7	Presente	Ausente	Ausente	Presente
T8	Presente	Ausente	Presente	Presente
T9	Ausente	Presente	Ausente	Ausente
T10	Ausente	Presente	Presente	Ausente
T11	Ausente	Presente	Ausente	Presente
T12	Ausente	Presente	Presente	Presente
T13	Ausente	Ausente	Presente	Ausente
T14	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
T15	Ausente	Ausente	Presente	Presente
T16	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Após 7 dias, o filme plástico que tampava o tubo (para evitar contaminação) foi retirado para possibilitar o pleno desenvolvimento da planta, que ultrapassou o comprimento do tubo (Figura 6).

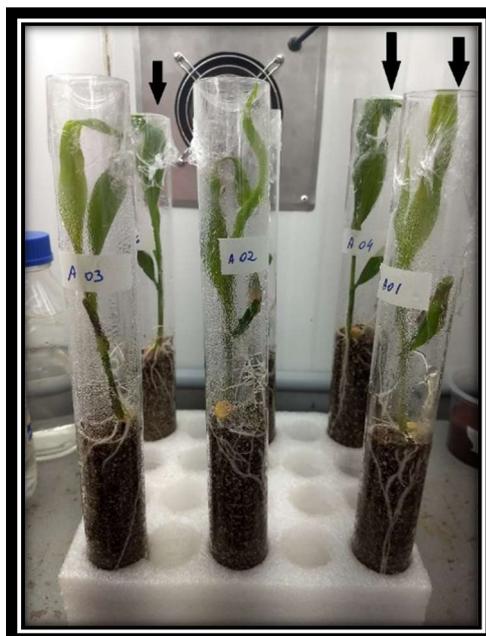


Figura 6. Plantas de milho após 7 dias de incubação, alcançando o limite do tubo (foto do próprio autor).

Quinze dias após a transferência das sementes pré-germinadas para o tubo, as plantas foram avaliadas. Foram realizadas as análises de comprimento de raiz e parte aérea, com o auxílio de uma régua. Também foi determinada a matéria seca da parte aérea e da raiz; para tanto a planta foi separada (raiz e parte aérea) com o uso de um bisturi, e cada segmento, de cada planta, foi colocada em um saco de papel, individualmente. Os sacos foram mantidos em incubadora de secagem, a 60°C até peso constante. A massa seca das plantas foi determinada em balança analítica e os resultados expressos em miligramas.

O mesmo experimento foi repetido, nas mesmas condições e tratamentos anteriormente descritos, apenas com a alteração da concentração de células da levedura *T. globosa*, para 1×10^6 células/mL, nos tratamentos em que foi realizada a inoculação das sementes e/ou plântulas de milho.

4.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de LSD de Fisher a 5% de significância. As análises foram realizadas utilizando o software *Statistica V.7*.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas germinaram na porcentagem informada pelo lote utilizado, 85% de germinação. Não se observou diferença na germinação entre as sementes inoculadas e não inoculadas. O processo de desinfecção também possibilitou a obtenção de sementes com ausência visível de contaminação fúngica ou bacteriana. Este ponto foi importante para o andamento do experimento, que tinha por objetivo o desenvolvimento de plantas com ausência de microrganismos endófitos e/ou epífitos, para a avaliação da ação, com o máximo de exclusividade, da levedura *T. globosa* sobre a planta.

Quanto a análise das plantas após o desenvolvimento nos tubos com vermiculita, pode-se observar na Figura 7 que, para o comprimento da raiz, os tratamentos com melhores resultados foram T1, T5 e T9, que consistem nas plantas que receberam a inoculação da levedura nas sementes e na planta, somente na semente, e somente na planta, respectivamente. Os resultados, porém, não diferem do tratamento controle (T16 - sem inoculação ou adição de triptofano e/ou glicose). É importante notar que o mesmo padrão foi observado para as duas concentrações de células utilizadas (1×10^6 células/mL e 1×10^3 células/mL) (Figura 7 - A e B).

A adição de triptofano nas plantas inoculadas (T2, T6 e T10) originou raízes mais curtas. Resultado semelhante foi obtido nas plantas tratadas com triptofano, sem inoculação (T13). As plantas que receberam adição de glicose e inoculação (T3, T4,

T7, T8, T11 e T12) foram as que apresentaram as menores raízes. Não houve diferença, porém, do resultado obtido nas plantas tratadas com glicose e sem inoculação da levedura (T14) (Figura 7).

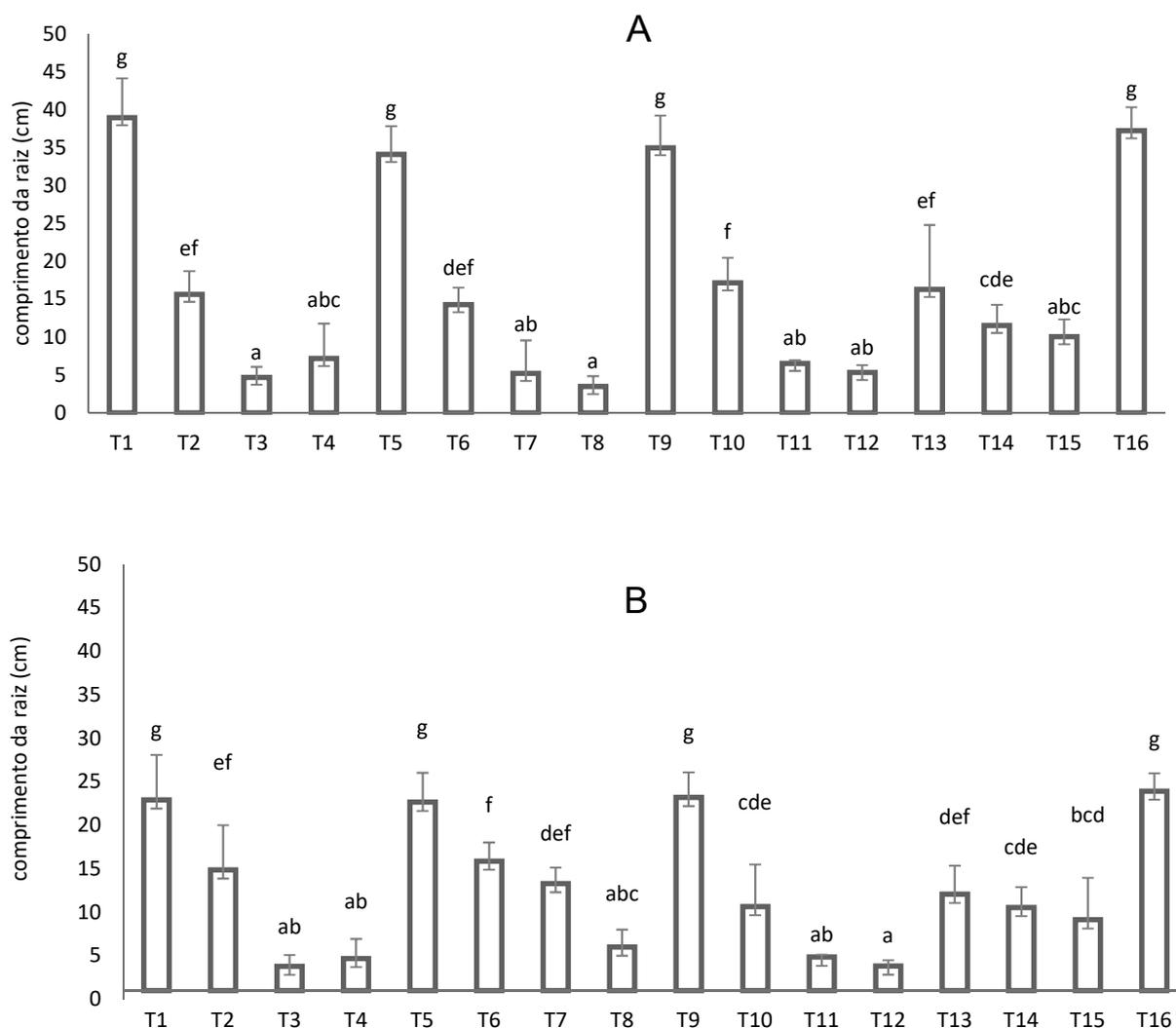


Figura 7. Comprimento de raiz de milho para os tratamentos avaliados. A – Inoculação de *T. globosa* na concentração de 1×10^6 células/mL e B - inoculação de *T. globosa* na concentração de 1×10^3 células/mL de levedura *T. globosa*. As barras representam o erro padrão da média. Letras diferentes indicam que há diferença significativa entre as médias pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$). Tratamentos descritos na Tabela 1, pag. 19.

Para a massa seca da raiz, os resultados para o inóculo de 1×10^6 células/mL, seguiram o mesmo padrão observado para o comprimento da raiz. Os melhores resultados foram observados para os tratamentos T1, T5, T9 e T16. A exceção, para este parâmetro foi o T6 (inoculação das sementes e adição de triptofano), que não diferiu do tratamento T5 (somente inoculação das sementes). Para os outros

tratamentos com inoculação (T1 e T9), quando a adição de triptofano e/ou glicose foi realizada, o efeito foi prejudicial à produção da massa seca radicular. A adição de glicose apresentou-se como muito prejudicial para o desenvolvimento da raiz (Figura 8 – A e Figura 9 – A).

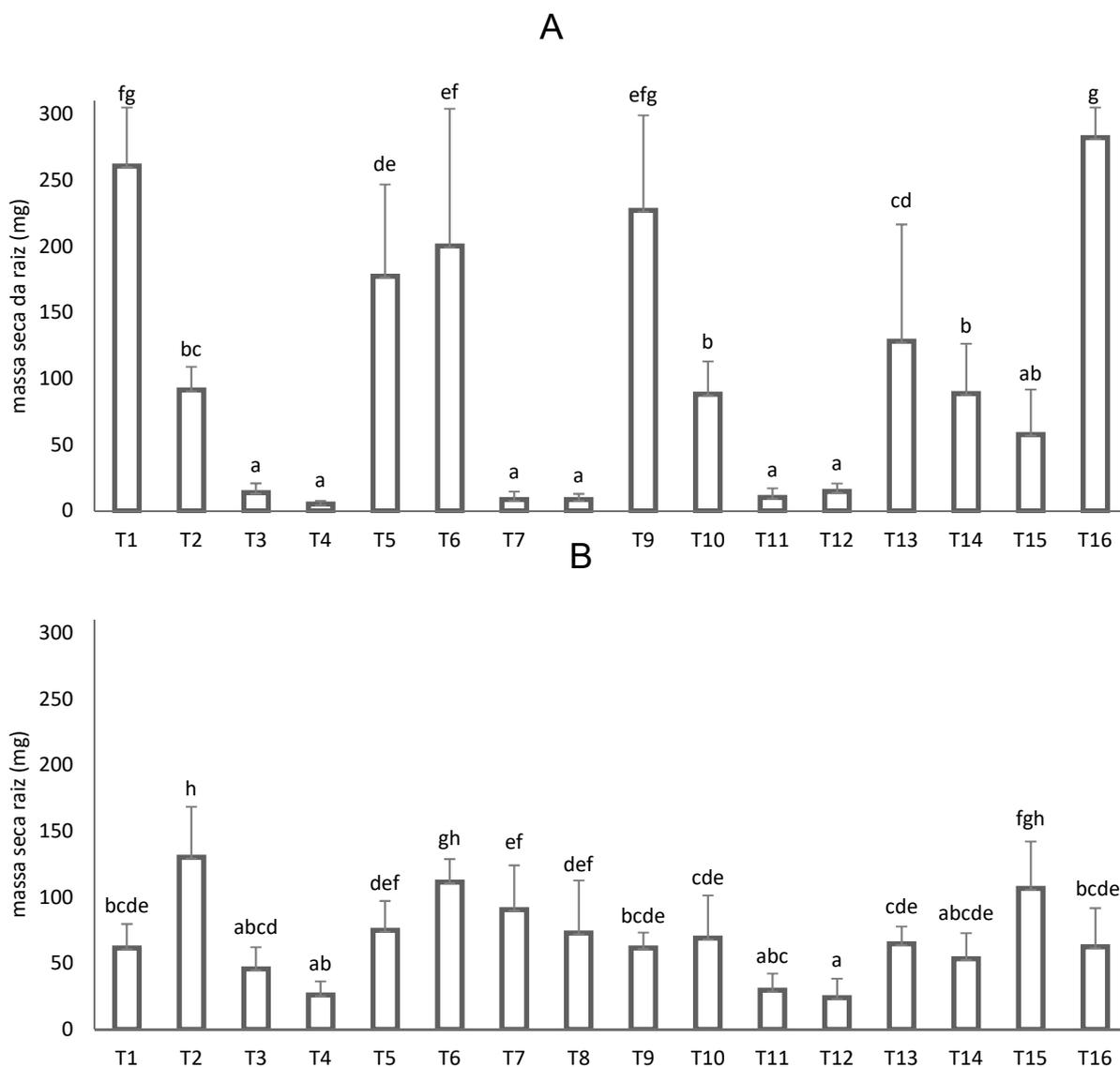


Figura 8. Massa seca de raiz de milho para os tratamentos avaliados. A – Inoculação de *T. globosa* na concentração de 1×10^6 células/mL e B - inoculação de *T. globosa* na concentração de 1×10^3 células/mL de levedura *T. globosa*. As barras representam o erro padrão da média. Letras diferentes indicam que há diferença significativa entre as médias pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$). Tratamentos descritos na Tabela 1, pag. 19.

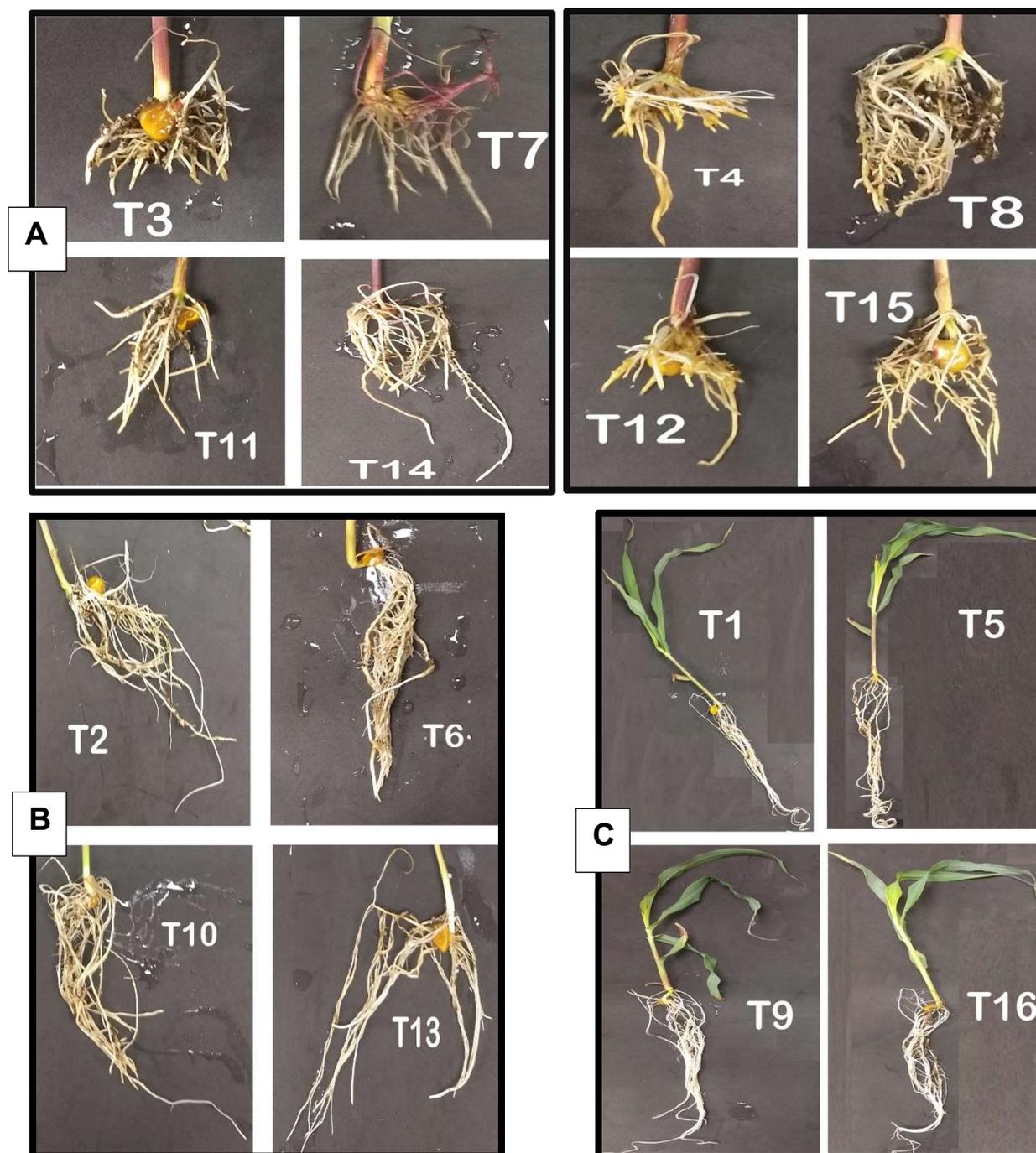


Figura 9. A - Raízes das plantas que receberam adição de glicose (20 mg/L) no meio de cultura MS. (T3 – inoculação de semente e planta; T7 – inoculação de semente; T4 – inoculação de semente e planta e adição de triptofano; T8 – inoculação de semente e adição de triptofano; T11 – inoculação da planta; T14 – sem inoculação; T12 – inoculação de planta e adição de triptofano; T15 – adição de triptofano). B – Tratamentos que receberam apenas a adição de Triptofano (0,1%) no meio de cultura MS. (T2 - inoculação de semente e planta; T6 – inoculação de semente; T10 – inoculação da planta; T13 – sem inoculação). C - Tratamentos com melhores resultados de desenvolvimento radicular (T1, T5 e T9 – inoculação da levedura em semente e planta, somente semente e somente planta, respectivamente; T16 – tratamento controle). Plantas inoculadas com suspensão de 1×10^6 células/mL.

Quando os resultados de massa seca de raiz são considerados para o inóculo de 1×10^3 células/mL, o padrão não se repetiu, como observado na concentração de inóculo superior. A adição de triptofano nos tratamentos com inoculação da levedura (T2, T6 e 10) apresentou resultados superiores daqueles em que apenas a inoculação foi realizada. Destaque dado aos tratamentos T2 e T6, os quais receberam inoculação na semente e planta, e somente na semente, respectivamente. Os resultados, porém, não diferiram do tratamento controle (T16) (Figura 8 – B).

Nos tratamentos nos quais a levedura foi inoculada e houve a adição de glicose, ocorreu provavelmente o processo de fermentação na rizosfera das plantas de milho, com a produção de etanol e CO_2 . Foi possível observar nos tubos que receberam glicose, ocorreu o estufamento do filme plástico que protegia o interior do tubo de contaminação (Figura 10) e também ao retirar o plástico após 7 dias, notou-se a presença de cheiro característico de fermentação. Este fato deve ter sido estimulado pela presença do filme plástico tampando os tubos de ensaio durante os primeiros dias do experimento, que foi usado para evitar a contaminação da planta e da vermiculita. Considerando que a levedura *T. globosa* é capaz de fermentar glicose na ausência de oxigênio, este fato pode ter sido o responsável pelo prejuízo ao desenvolvimento do vegetal (Figura 8 – A)

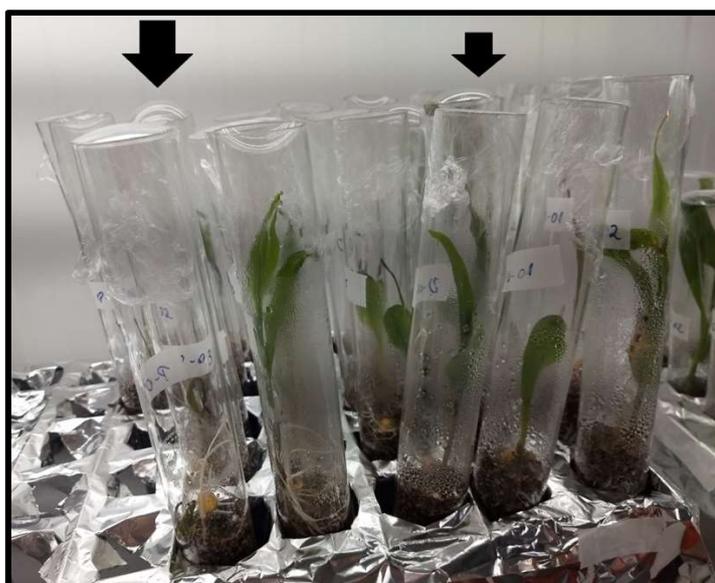


Figura 10. Detalhe do estufamento do filme plástico nos tratamentos inoculados com a levedura e com adição de glicose no meio.

A decisão quanto ao uso de leveduras como promotoras de crescimento vegetal deve considerar características do seu metabolismo energético e as condições que a levedura vai enfrentar quando inoculada na rizosfera. O solo é um ambiente que pode apresentar nichos anóxicos, os quais proporcionam condições ideais para a fermentação. Conforme Moreira, Siqueira (2006) o processo fermentativo ocorre com polímeros orgânicos, açúcares e aminoácidos e são importante fontes de carbono e energia para diversos organismos, no entanto, vários metabólitos anaeróbios são fitotóxicos para as plantas mesmo em baixas concentrações, podendo inibir o crescimento das raízes. Neste caso, a ocorrência de fermentação etanólica, por exemplo, dependendo da intensidade, pode promover aumento significativo da concentração de CO₂ e etanol, o que pode afetar a respiração aeróbia radicular, causar toxicidade e prejuízo ao desenvolvimento da planta. As condições apresentadas neste experimento proporcionaram ambiente favorável à fermentação pela levedura, o que refletiu nos resultados observados em todos os tratamentos em que a inoculação da levedura e a adição de glicose foi realizada.

A utilização da glicose nos tratamentos teve por objetivo fornecer à levedura uma fonte de carbono, para seu estabelecimento na rizosfera do milho. Todavia em condições naturais, as plantas secretam diversos exsudatos radiculares, dentre eles açúcares, que podem servir como fonte de carbono para a flora microbiana (BADRI; VIVANCO, 2009). São através desses compostos que os microrganismos são capazes de se estabelecer e auxiliar o desenvolvimento da planta (CHEN et al., 2006; NAKAYAN et al., 2013).

Para o comprimento da parte aérea, a inoculação das sementes e/ou plantas com a levedura, e/ou a adição de triptofano no meio, não promoveram incremento ao tratamento controle (T16). Para os tratamentos que receberam a concentração maior de células (1×10^6 células/mL) e glicose (T3, T4, T7, T8, T11, T12), ou glicose e/ou triptofano (T14 e T15) foi observado prejuízo ao desenvolvimento da planta (Figura 11 – A), semelhante ao observado para o desenvolvimento radicular. Para as plantas que receberam uma concentração menor de células de levedura (1×10^3 células/mL), todos os tratamentos (inoculação com levedura, e/ou adição de triptofano e/ou glicose) originaram plantas com tamanho inferior ao controle. Os tratamentos não diferiram entre si (Figura 11 – B).

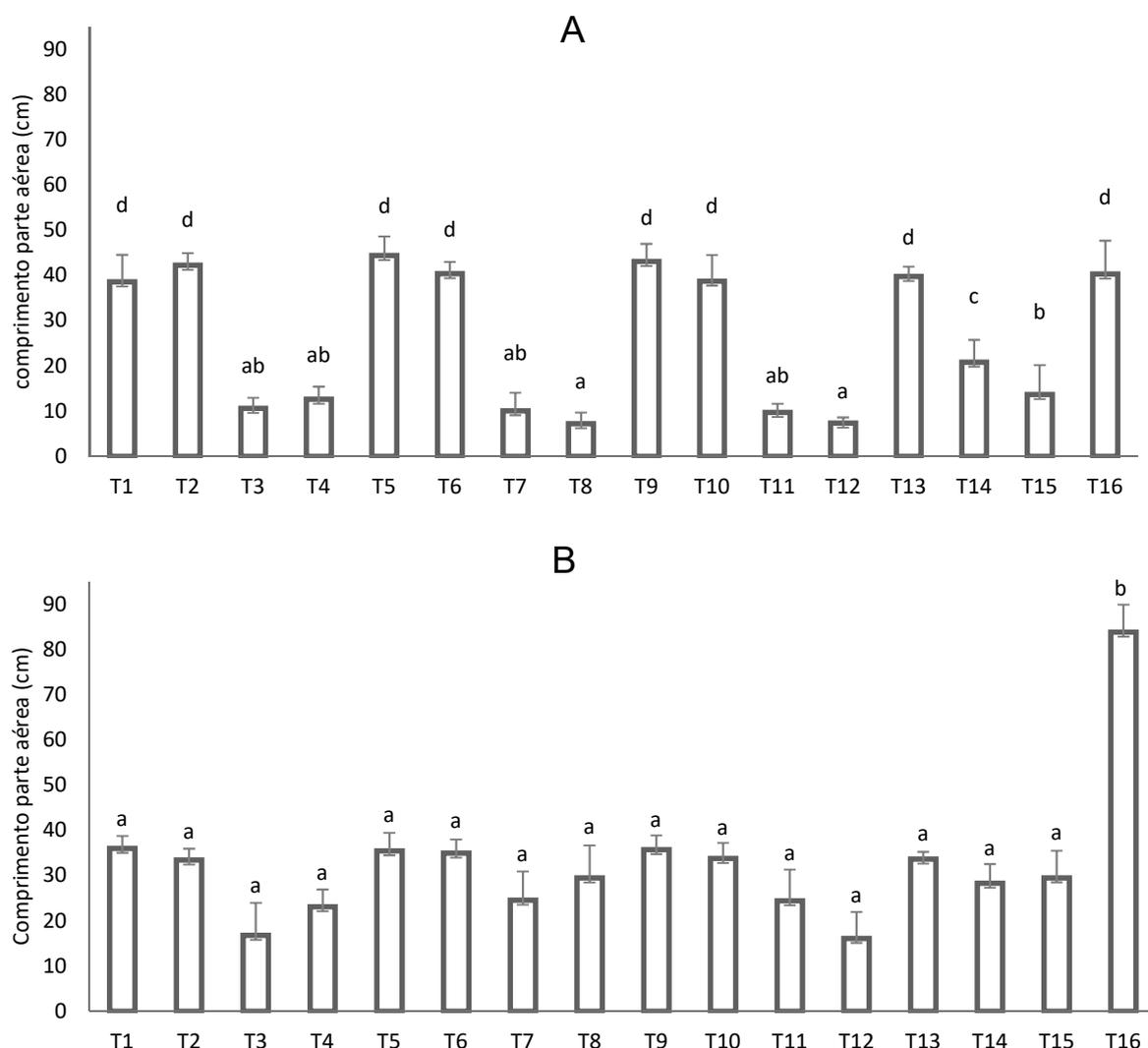


Figura 11. Comprimento da parte aérea de plantas de milho para os tratamentos avaliados. A – Inoculação de *T. globosa* na concentração de 10^6 células/mL e B - inoculação de *T. globosa* na concentração de 10^3 células/mL de levedura *T. globosa*. As barras representam o erro padrão da média. Letras diferentes indicam que há diferença significativa entre as médias pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$). Tratamentos descritos na Tabela 1, pag. 19

Para a variável massa seca da parte aérea, para os tratamentos com o inóculo mais concentrado (1×10^6 células/mL), os melhores resultados foram observados nos tratamentos T5 e T9; estes, porém, não diferiram do tratamento controle T16 (Figura 12 – A). É importante observar que, quando o triptofano é adicionado, nos tratamentos T6 e T10, há uma queda significativa na massa seca vegetal (Figura 12 – A). Outro ponto importante observado é que a dupla inoculação (na semente e na planta), no tratamento T1, proporcionou resultados inferiores ao controle, mostrando que uma

maior concentração de inoculação não favoreceu o desenvolvimento da parte aérea do vegetal, diferente do que foi observado no mesmo tratamento para massa seca da raiz.

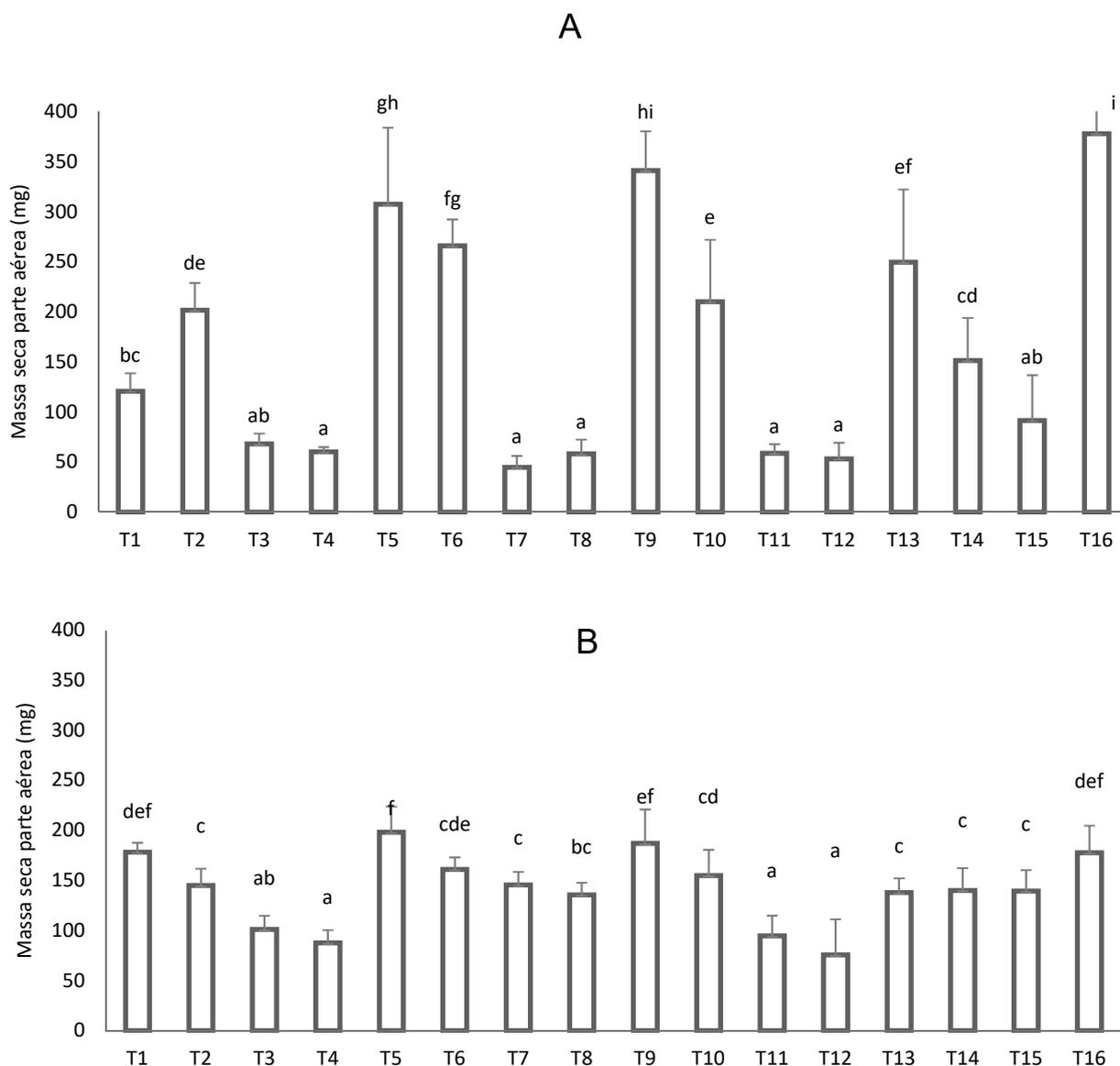


Figura 12. Massa seca da parte aérea de plantas de milho para os tratamentos avaliados. A – Inoculação de *T. globosa* na concentração de 10^6 células/mL e B - inoculação de *T. globosa* na concentração de 10^3 células/mL de levedura *T. globosa*. As barras representam o erro padrão da média. Letras diferentes indicam que há diferença significativa entre as médias pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$). Tratamentos descritos na Tabela 1, pag. 19

Para a variável massa seca da parte aérea, quando o inóculo empregado foi o menos concentrado (1×10^3 células/mL), novamente observa-se que os tratamentos

com melhores resultados foram os T1, T5, T9 e T16, entretanto estatisticamente são iguais (Figura 12 – B). Apesar dos resultados de comprimento de massa área não diferirem entre os tratamentos (apenas do controle), os dados de massa seca confirmam que a adição de glicose e/ou triptofano no meio foi prejudicial ao desenvolvimento vegetal. A inoculação das sementes e/ou plantas de milho com células de levedura não promoveu o incremento de massa vegetal, uma vez que os tratamentos não diferiram do controle.

A inoculação das plantas com células da levedura rizosférica *T. globosa*, produtora de alta quantidade de AIA *in vitro* na presença de triptofano (OLIVERIA, 2016; ALBERTINI, 2017) e a adição de triptofano no meio, pode ter prejudicado o desenvolvimento vegetal devido a produção de concentrações de AIA acima das desejáveis à rizosfera do milho. Schlindwein et al. (2008) avaliaram a inoculação de *Bradyrhizobium* sp. (TV-13) e a adição de triptofano em sementes de alface; os autores observaram que a linhagem apresenta alta produção de AIA na presença de triptofano (*in vitro*). Na planta o tratamento (bactéria e triptofano) promoveu prejuízo no desenvolvimento, tanto da raiz como da parte aérea das plântulas.

Cabrini (2018), avaliando a ação da levedura *T. globosa* (5S55) e seus metabólitos na germinação e desenvolvimento inicial de alface, em condições controladas, observaram que a raiz da cultivar de alface Crocantela foi a parte da planta mais afetada pela inoculação das sementes; quando as sementes foram tratadas com o metabólito da levedura e o triptofano foi adicionado, as raízes apresentaram maior diâmetro. No entanto, prejuízo nas variáveis área e comprimento de raiz foram observados para cultivar de alface Valentina nos tratamentos com adição de triptofano (com levedura ou metabólito).

Os resultados obtidos nesse trabalho apresentaram diferentes respostas para as duas concentrações de células utilizadas como inóculo. Por isso foi realizada a comparação entre os tratamentos considerando apenas a inoculação de células, nas diferentes concentrações, com o tratamento controle, para os diferentes parâmetros avaliados (Figura 13, 14 e 15).

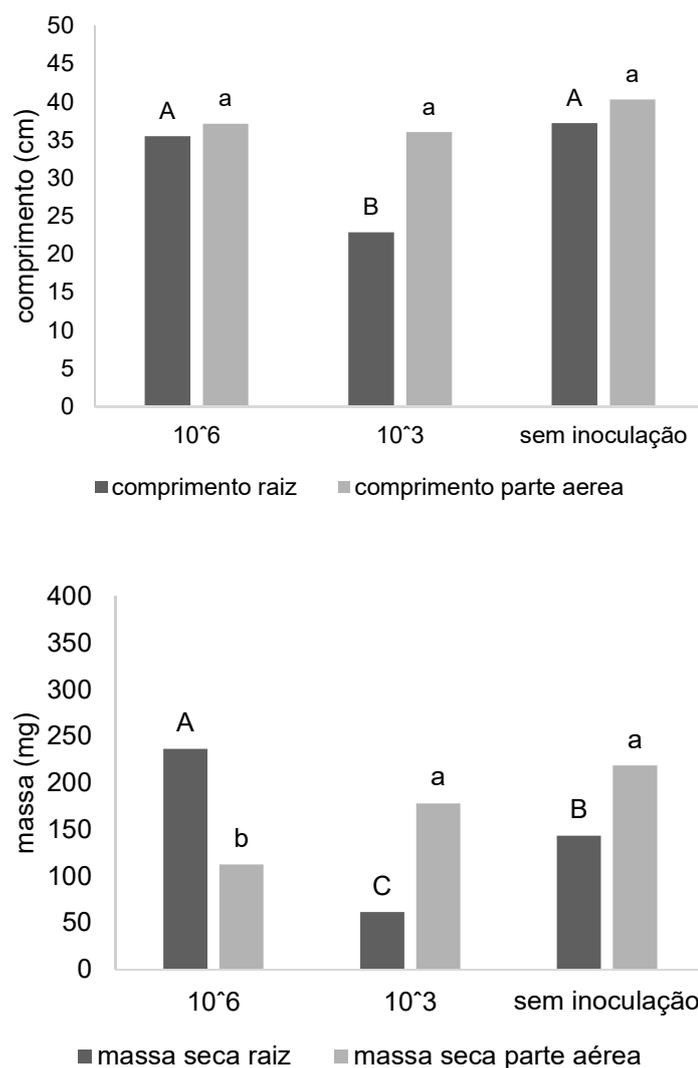


Figura 13. Comparação das concentrações de células avaliadas como inóculo na semente e planta, sem adição de glicose e/ou triptofano, no comprimento e massa seca da raiz e parte aérea. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os parâmetros de raiz, e letras minúsculas indicam diferença estatística entre os parâmetros de parte aérea, pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$).

É possível observar na figura 13, que o inóculo mais concentrado proporcionou resultados melhores que o inóculo menos concentrado para comprimento de raiz e parte aérea (sem diferença estatística), e massa seca de raiz, para a dupla inoculação (semente e planta).

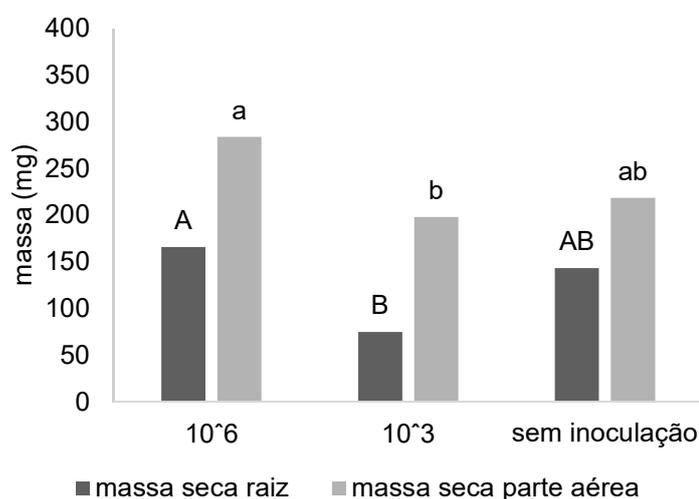
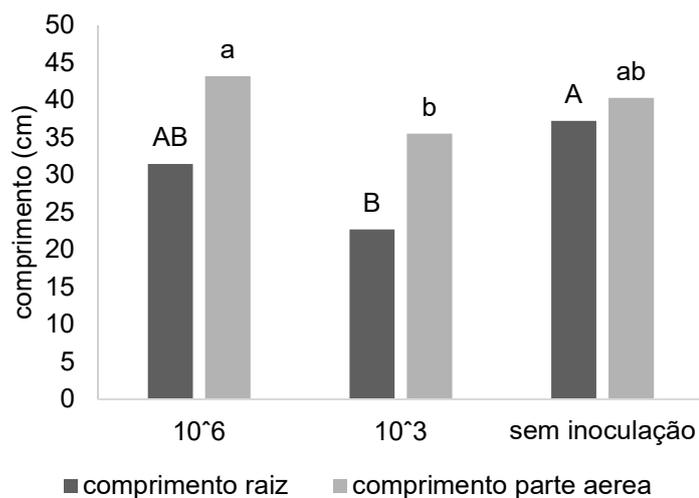


Figura 14. Comparação das concentrações de células avaliadas como inóculo apenas inoculação na semente, sem adição de glicose e/ou triptofano, no comprimento e massa seca da raiz e parte aérea. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os parâmetros de raiz, e letras minúsculas indicam diferença estatística entre os parâmetros de parte aérea pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$).

Na figura 14, onde a inoculação é apenas da semente, o inóculo mais concentrado é superior numericamente para comprimento da parte aérea e a massa seca da parte aérea e raiz, porém sem diferença estatística com inoculação 10^3 células/mL e sem inoculação.

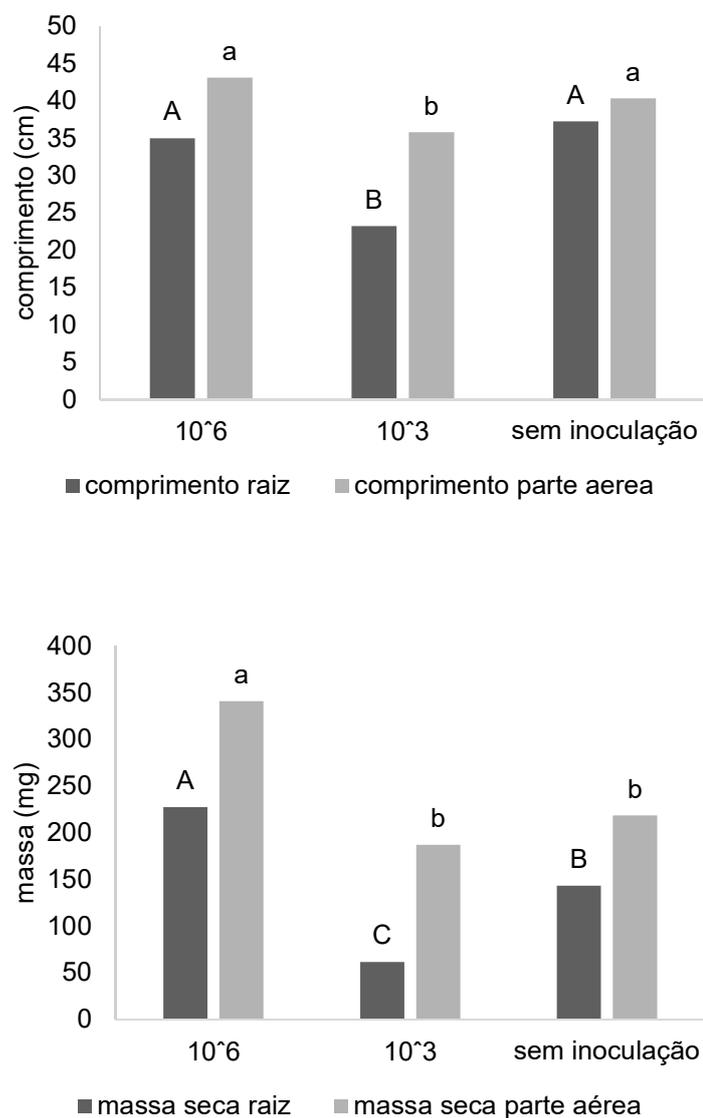


Figura 15. Comparação das concentrações de células avaliadas como inóculo, com inoculação apenas na planta, sem adição de glicose e/ou triptofano, no comprimento e massa seca da raiz e parte aérea. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os parâmetros de raiz, e letras minúsculas indicam diferença estatística entre os parâmetros de parte aérea, pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$).

Para a inoculação da planta, o mesmo inóculo foi superior para comprimento de raiz e parte aérea, e para massa seca da parte aérea e raiz. Importante notar que, apesar desta maior concentração celular ter apresentado melhores resultados, estes não foram superiores ao tratamento controle. Exceção foi observada para massa seca de raiz e parte aérea, o qual foi superior ao controle (Figura 15).

Estudos apresentados por Kapulnik et al. (1985) mostra que altos níveis de inoculação inicial em plantas inoculadas com *Azospirillum* foi negativa, como o ocorrido neste estudo. Acredita-se que é devido a competição por nutrientes com as plantas, no início do desenvolvimento da colônia.

Outros trabalhos mostraram que a inoculação da levedura rizosférica *T. globosa* (linhagem 5S55) em tomate (OLIVEIRA, 2016) e alface (CABRINI, 2018) apresentaram resultados positivos no incremento do desenvolvimento vegetal. Oliveira (2016) estudando o desenvolvimento de mudas de tomate inoculadas por *T. globosa* (linhagem 5S55), verificou que a presença da levedura promoveu incrementos no crescimento da planta, tanto para altura da parte aérea, quanto para comprimento de raiz, cujos resultados para esses parâmetros foram superiores aos resultados obtidos pelo tratamento controle, sem inoculação.

Nakayan et al. (2013) avaliando a promoção de crescimento vegetal por *Meyerozyma guilliermondii* (CC1), *Rhodotorula mucilaginosa* (CC2) e *Meyerozyma caribbica* (CC3), em milho e alface em casa de vegetação, observaram resultados satisfatórios para vigor de sementes, altura de planta e massa seca de milho quando comparada ao controle sem inoculação. As linhagens de levedura avaliadas por Nakayan et al. (2013) apresentaram, em ensaios *in vitro*, capacidade de produção de AIA e solubilização de P. Os autores também observaram que *M. guilliermondii* (CC1) aumentou a captação total de N, P, K, Fe, Mn e Zn em comparação com o controle.

Nassar et al. (2005) analisaram promoção de crescimento vegetal em plantas de milho em casa de vegetação, na presença e ausência de triptofano, estudando a levedura *Williopsis saturnus* (produtora de AIA) e *Rhodotorula glutinis* (não produtora de AIA). Os autores observaram que a adição de triptofano afetou de forma significativa o desenvolvimento da planta e promoveu aumento da concentração endógena de AIA nas raízes e parte aérea de plântulas, mesmo sem a presença da levedura. É conhecido que microrganismos promotores de crescimento vegetal afetam o sistema radicular das plantas inoculadas, com estímulo ao desenvolvimento de pelos radiculares, e mudança da sua arquitetura. Esta alteração afeta a absorção dos nutrientes pela planta, que por sua vez, afeta o desenvolvimento da parte aérea, promovendo maior produção de biomassa (BERENDSEN, 2012).

Bais et al. (2006) ressalta, porém, que a interação dos microrganismos com os plantas pode ser benéfica, prejudicial ou neutra, dependendo de fatores importantes: a exsudação radicular (água, açúcares, esteróis, etc.), que estimula e alimenta a

microbiota; a constituição da comunidade microbiana presente na raiz, e o sucesso da colonização daqueles microrganismos que podem trazer benefícios para a planta. A grande biodiversidade na rizosfera é um desafio para a pesquisa sobre as relações entre as plantas e os microrganismos. Além disso, os membros das comunidades microbianas também interagem uns com os outros, e essas interações podem ou não favorecer o desenvolvimento da planta (SASSE; MARTINOIA, 2018).

Estudos mostram que o número de leveduras presentes na rizosfera pode ser pequeno em comparação ao de outros microrganismos rizosféricos, como fungos filamentosos e bactérias (EL-TARABILY; SIVASITHAMPARAM, 2006; ROSA-MAGRI et al., 2012), e por isso poucos trabalhos são encontrados na literatura sobre a atuação deste grupo como promotores de crescimento vegetal. Assim esse estudo contribui para o melhor entendimento do papel das leveduras rizosféricas nesta função, e mostra que há potencial para que esse grupo atue de forma benéfica no incremento do desenvolvimento do milho.

Dentre as variáveis avaliadas neste trabalho, foi observado que a adição de triptofano e a inoculação das sementes foram as que se apresentaram mais significativas. Por isso os dados comparativos destas variáveis estão apresentados nas figuras 16, e 17.

É possível encontrar na literatura trabalhos que relatam o uso de triptofano como bioestimulante, responsável por proporcionar incrementos no desenvolvimento vegetal (NASSAR et al, 2005; SUN et al, 2014; OLIVEIRA, 2016). Este dado está relacionado ao fato deste aminoácido ser empregado, por microrganismos e pela própria planta, como precursor da produção de AIA (auxina) (PATTEN; GLICK, 1996). Neste trabalho, porém, os tratamentos com triptofano, independente da inoculação ou não da semente, apresentaram as menores médias quando comparado aos tratamentos sem triptofano. Este dado foi observado para comprimento da raiz para as duas concentrações de inóculo (Figura 16 e 17). Não foi observada diferença para comprimento de parte aérea. O resultado se repete quando avaliamos a massa seca de raiz, para o inóculo mais concentrado.

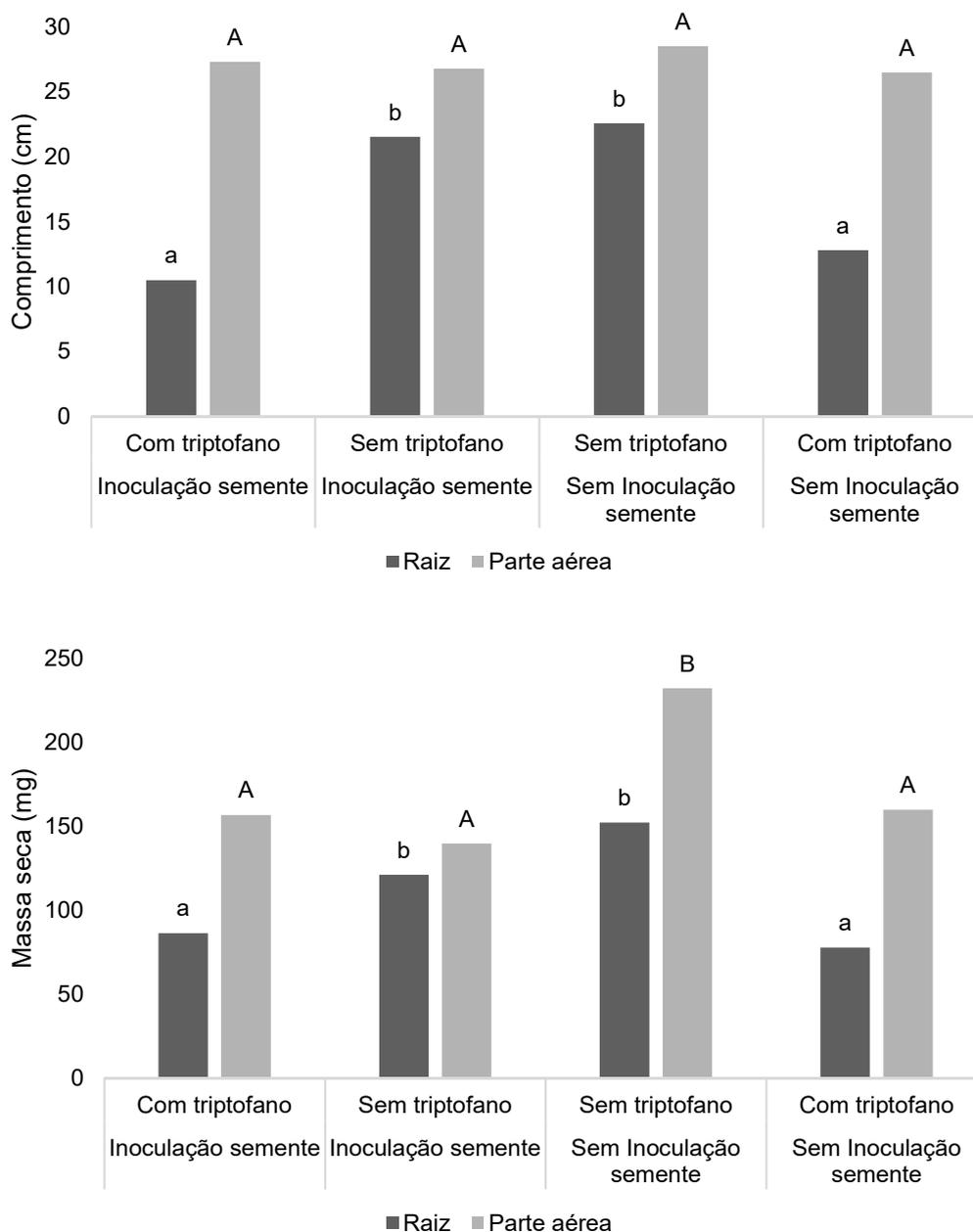


Figura 16. Comprimento e massa seca da raiz e parte aérea de plantas de milho para os tratamentos avaliados – inoculação ou não de *T. globosa* na concentração de 10^6 células/mL e adição ou não de triptofano. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os parâmetros de raiz, e letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os parâmetros da parte aérea pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$).

Para massa seca de raiz para o inóculo menos concentrado, porém, podemos notar que o tratamento com semente inoculada e adição de triptofano apresentou resultado superior. Para massa seca da parte aérea, e para o inóculo menos concentrado, a ausência de triptofano apresentou os melhores resultados (Figura 17).

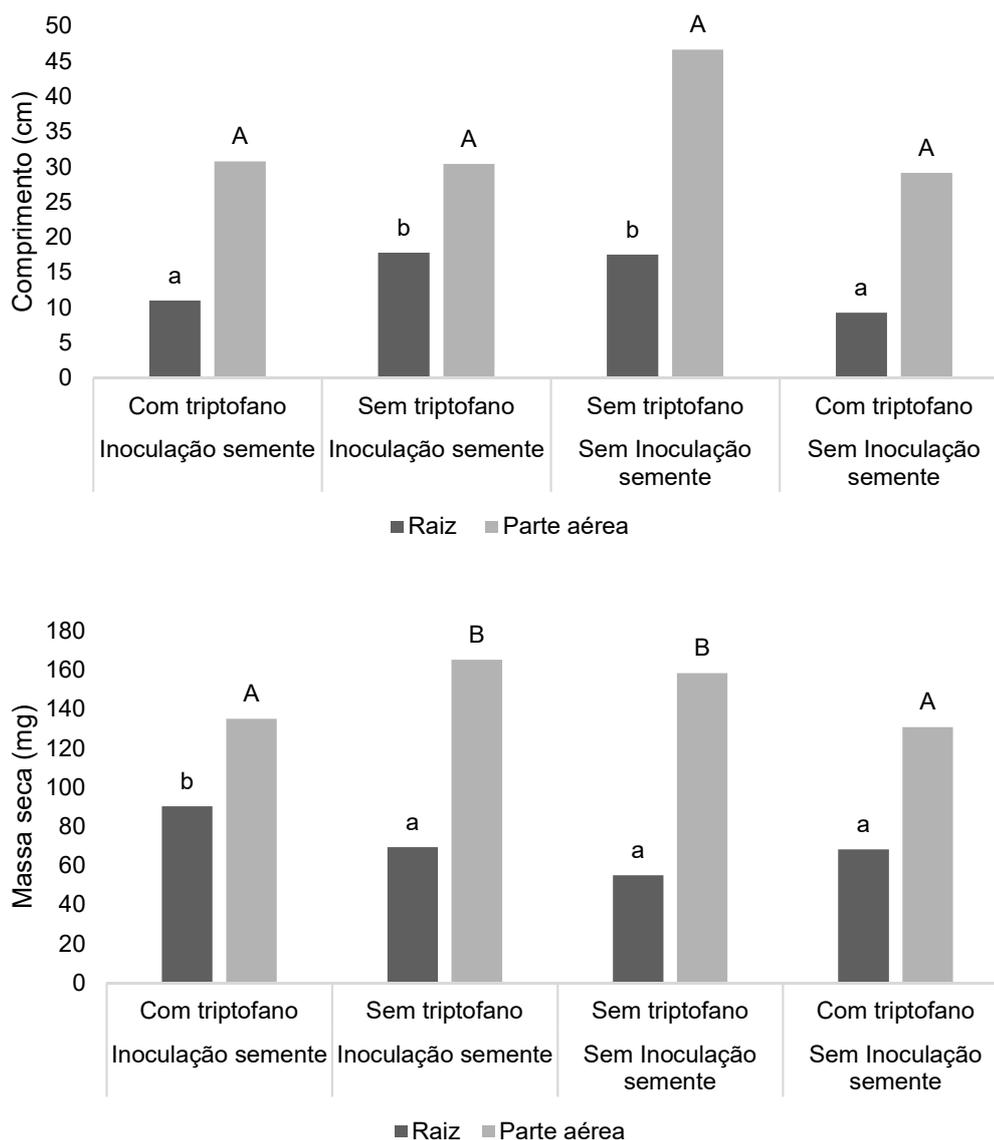


Figura 17. Comprimento e massa seca da raiz e parte aérea de plantas de milho para os tratamentos avaliados – inoculação ou não de *T. globosa* na concentração de 10^3 células/mL e adição ou não de triptofano. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os parâmetros de raiz, e letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os parâmetros da parte aérea pelo Teste de Fisher ($p \leq 0,05$).

6 CONSIDERAÇÕES

Esse é um estudo inédito, porém preliminar, uma vez que foi realizado em condições controladas, e apenas com análise do desenvolvimento inicial da planta de milho. Os resultados obtidos são promissores e motivam estudos mais aprofundados, com o emprego da inoculação das plantas em solo não estéril, em casa-de-vegetação e no campo. Otimizar a concentração de células no inóculo e avaliar a melhor forma de inoculação, são pontos imperativos para futuras investigações. Além é claro, é importante buscar a compreensão sobre como ocorre a relação entre a planta e o microrganismo, para desta forma, fomentar esta associação de forma a promover o incremento do desenvolvimento vegetal. Com isso, pode-se propor alternativas às tecnologias biológicas atualmente presentes no mercado, as quais auxiliam o produtor a realizar uma agricultura mais sustentável, com menor custo e maior produção.

Novos estudos devem ser realizados, com a inoculação do microrganismo em diferentes níveis de estresse oxidativo e concentração ideal como inóculo inicial, para avaliar as melhores condições para estimular a relação benéfica entre a levedura e a planta, observada em outros estudos, com outras espécies vegetais.

7 CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos é possível concluir que:

- a adição de glicose 20 mg/mL nos tratamentos com inoculação da levedura, promoveu prejuízo no desenvolvimento inicial das plantas de milho, tanto para a raiz como para a parte aérea;

- a adição de triptofano a 0,1% nos tratamentos com inoculação da levedura promoveu prejuízo no desenvolvimento das plantas na maioria dos tratamentos, exceto para massa seca da raiz, quando a inoculação foi na semente e na planta, ou somente na semente, na menor concentração de células, e somente na semente na maior concentração de células.

- o inóculo com 1×10^6 células/mL apresentou melhores resultados de incremento do desenvolvimento do milho, se comparado ao inóculo de 1×10^3 células/mL, exceto quando avaliada a parte aérea do milho, nos tratamentos com inoculação na semente e na planta; para comprimento não houve diferença entre as concentrações de células. Para massa seca, a maior concentração apresentou melhores resultados quando a inoculação foi realizada somente na planta.

- as condições propostas no experimento estimularam a fermentação etanólica pela levedura. Este fato é um alerta quanto ao potencial deletério da levedura para o desenvolvimento da planta.

8 LITERATURA CITADA

ALBERTINI, J. **Produção de ácido indol acético in vitro por *Torulaspota globosa***. 2017. 55p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2017.

ARAÚJO, R. S., HUNGRIA, M. **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa SPI, 1994. (Embrapa, Documentos, 44).

AVILA, L. A. **Efeitos do algodão Bt (Bollgard evento 531) na comunidade bacteriana da rizosfera**. 90 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

BADRI, D. V.; VIVANCO, J. M. Regulation and function of root exudates. **Plant Cell Environment**, v. 32, n. 6, p. 6661-681, 2009.

BAIS, H. P.; PARK, S. W.; WEIR, T. L.; CALLAWAY, R. M.; VIVANCO, J. M. How plants communicate using the underground information superhighway. **Trends Plant Science**, v. 9, n. 1, p. 26-32, 2004.

BAIS, H.P.; WEIR, T.L.; PERRY, L.G.; GILROY, S.; VIVANCO, J.M.; The Role of Root Exudates in Rhizosphere Interactions with Plants and Other Organisms, **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, p. 233–266, 2006.

BALDANI, J. I.; REIS, V. R. S.; TEXEIRA, K. R. S.; BALDANI, V. L. D. Potencial Biotecnológico de bactérias diazotróficas associativas e endofíticas. In: SERAFINE, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. (org) **Biotecnologia: avanços na agricultura e agroindustriais**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002, 433p.

BALDRIAN, P.; ZRUSTOVÁ, P.; TLÁSKAL, V.; DAVIDOVÁ A.; MERHAUTOVÁ V. VRSKA, T. Fungi associated with decomposing deadwood in a natural beech dominated forest. **Fungal Ecology**, v. 26, p. 109-122, 2016.

BARRET, M.; MORRISSEY, J.P.; O'GARA, F. Functional genomic analysis of plant growth-promoting rhizobacterial traits involved in rhizosphere competence. **Biology and Fertility of Soils**, v. 47, p. 729–743, 2011.

BERENDSEN R.L.; PIETERSE C.M.J.; BAKKER P.A.H.M., The rhizosphere microbiome and plant health, **Trends in Plant Science**, v.17, n.8, p.478–486, 2012.

BERG, G.; MAHNERT, A.; MOISSEL-EICHINGER, C. Beneficial effects of plant associated microbes on indoor microbiomes and human health? **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. 15, 2014.

BERG, G.; SMALLA, K. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 68, n.1, p. 1–13, 2009.

BERTON, R.S.; PRATT, P.F.; FRANKENBERGER, W.T. Phosphorus availability in soils amended with organic materials, estimated by three chemical methods and two enzyme activities. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.21, n.4, p.617-624, 1997.

BORÉM, A.; GIÚDICE, M. P. Cultivares transgênicos. In: GALVÃO, J. C.C.; MIRANDA, G.V. (Eds), **Tecnologias de Produção do Milho**. Editora: UFV- Universidade Federal de Viçosa, 85p. 2004.

BOTHA, A. The importance and ecology of yeasts in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.43, n.1, p.1-8, 2011.

BOTTINI, R.; CASSÁN, F.; PICCOLI, P. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.65, n.5, p.497-503, 2004.

BULUT, S. Evaluation of yield and quality parameters of phosphorous-solubilizing and N-fixing bacteria inoculated in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Turkish Journal of Agriculture**, v.37, n.5, p. 545-554, 2013.

BURD, G. I.; DIXON, D. G.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. **Canadian Journal of Microbiology**, v.46, n. 3, p.237-245, 2000.

CABRINI, P. C. **Promoção de crescimento de cultivares de alface pela levedura rizosférica *Torulaspora globosa***. 2018. 96p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2018.

CAKMAKCI, R.; AYDIN, A.; SAHIN, F. Growth promotion of plants by plant growth promoting rhizobacteria under greenhouse and two diferente field soil conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n.6, p. 1482-1487, 2006.

CAMILLERI, C.; JOUANIN, L. The TR-DNA region carrying the auxin synthesis genes of the *Agrobacterium rhizogenes* agropine-type plasmid pRiA4: nucleotide sequence analysis and introduction into tobacco plants. **Molecular Plant-Microbe Interactions Journal**, v.4, p.155–162, 1991.

CANO, M. A. Interacción de microorganismos benéficos em Plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. **Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica**, v. 14, n. 2, p.15 – 31, 2011.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016, 221p.

CARDOSO, E. J.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. 1. ed. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992, 360 p.

CASTIGLIONI, P.; WARNER, D.; BENSON, R. J.; ANSTROM, D. C.; HARRISON, J.; STOECKER, M.; ABAD, M.; KUMAR, G.; SALVADOR, S.; D'ORDINE, R.; NAVARRO, S.; BACK, S.; FERNANDES, M.; TARGOLLI, J.; DASGUPTA, S.; BONIN, C.; LUETHY, M. H.; HEARD, J. Bacterial RNA chaperones confer abiotic stress tolerance in plants and improved grain yield in maize under water-limited conditions. **Plant Physiology**, v. 147, n. 2, p. 446-455, 2008.

CATI, Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. **Milho Al-Piratinunga** Disponível em:< <http://www.cati.sp.gov.br/portal/themes/unify/arquivos/produtos-e-servicos/MILHO-AL-PIRATININGA.pdf>> Acesso: Abril de 2019.

CATTELAN A.J.; HARTEL P. G. AND FUHRMANN J. J. Screening for plant growth promoting *Rhizobacteria* to promote early soybean growth. **Soil Science Society of America Journal**, v. 63, n. 6, p. 1670-1680, 1999.

CHAGAS, A. F. JR.; OLIVEIRA, L. A. de.; OLIVEIRA, A. N. de. Produção de ácido indolacético por rizóbios isolados de caupi. **Revista Ceres**, v. 56, n.6, p. 812-817, 2009.

CHEN, Y. P.; REKHA, P. D.; ARUN, A. B.; SHEN, F. T.; LAY, W. A.; YOUNG, C. C. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. **Applied Soil Ecology**, v.34, n.1, p.33-41, 2006

CONG, P. T.; DUNG, T. D.; HIEN, T. M.; HIEN, N.T.; CHOUDHURY, A.T.M.A.; KECSKÉS, M. L.; KENNEDY, I. R. Inoculant plant growth-promoting microorganisms enhance utilisation of urea-N and grain yield of paddy rice in Southern Vietman. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n.1, p.52-61, 2009.

CORRÊA, B. O.; MOURA, A. B.; DENARDIN, N. D.; SOARES, V. N.; SCHÄFER, J. T.; LUDWIG, J. Influência da microbiolização de sementes de feijão sobre a

transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.156-163, 2008.

CORREIA, M. E. F.; OLIVEIRA, L. C. M. de. **Fauna de Solo: Aspectos Gerais e Metodológicos**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2000. 46p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 112).

CORREIA, M.E.F.; OLIVEIRA, L.C.M. de. Importância da fauna de solo para a ciclagem de nutrientes. In: AQUINO, A.M. de; ASSIS, R.L. de (Ed.). **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. p.77-99.

DI FIORE, S.; DEL GALLO, M. Endophytic bacteria: their possible role in the host plants. In: FENDRIK, I.; DEL GALLO, M.; VANDERLEYDEN, J.; DE ZAMAROCZY, M. **Azospirillum VI and related microorganisms**, 37.ed. Berlin: Springer, 1995. p.169-187.

DILARRI, G.; BIZARRIA JUNIOR, R.; SCARCELA, A. S. A.; SANTANA, R. I. M.; ROSA-MAGRI, M. M. Avaliação de leveduras isoladas de áreas agrícolas como solubilizadoras de rochas e minerais. In: VII Congresso Científico da Uniararas, Araras, 2012. **Anais**. Araras: Fundação Hermínio Ometto, 2012.

EGAMBERDIYEVA, D. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. **Applied Soil Ecology**, v. 36, n. 2-3, p.184-189, 2007.

EL-TARABILY, K.A.; SIVASITHAMPARAM, K. Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. **Mycoscience**, v. 47, n.1, p. 25-35, 2006.

FU, S.F.; SUN, P.F.; LU, H.Y.; WEI, J.Y.; XIAO, H.S.; FANG, W.T.; CHENG, B.Y.; CHOU, J.Y. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from the phyllosphere and rhizosphere of *Drosera spatulata* Lab. **Fungal Biology**, v.120, n.3, p.433-448, 2016.

GHOLAMI, A.; SHAHSAVANI, S.; NEZARAT, S. The effect of plant growth promoting *Rhizobacteria* (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. **International Scholarly and Scientific Research & Innovation**, v. 3, n.1, p. 19-24, 2009.

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

GLICK, B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v.41, n. 12, p.109-117, 1995.

GOMES, E. A.; SILVA, U. de. C.; PAIVA, C. A. de. O.; LANA, U. G. de. P.; MARRIEL, I. E.; SANTOS, V. L. dos. **Microrganismos promotores do crescimento**

de plantas. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 51 p. (Embrapa Milho e Sorgo, Documentos, 208).

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v.37, n.3, p.395-412, 2005.

HUNGRIA, M.; URQUIAGA, S. Transformações microbianas de outros elementos (Potássio, micronutrientes e metais pesados). In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Ed.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.329-340.

IGNATOVA, L.V.; BRAZHNIKOVA, Y. V.; BERZHANOVA, R. Z.; MUKASHEVA, T. D. Plant growth-promoting and antifungal activity of yeasts from dark chestnut soil. **Microbiological Research**, v. 175, p. 78-83, 2015.

JOHNSTON-MONJE, D.; LUNDBERG, D. S.; LAZAROVITS, G.; REIS, V. M.; RAIZADA, M. N. Bacterial populations in juvenile maize rhizospheres originate from both seed and soil. **Plant and Soil**, v. 405, n. 1, p. 337-355, 2016.

KAPULNIK Y.; GAFNY R.; OKON Y. Effect of *Azospirillum spp.* inoculation on root development and NO₃ uptake in wheat (*Triticum aestivum* cv. Miriam) in hydroponic systems. **Canadian Journal of Botany**, v. 63, p. 627-663, 1985.

KIMURA, M.; MATSUDA, Y.; YOSHIOKA, T.; SUMI, N.; OKANO, Y. Identification and characterization of STK12/Aik2: a human gene related to aurora of *Drosophila* and yeast *IPL1*. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 82, n.3-4, p. 147-152, 1998.

KUCEY, R. M. N. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 63, n. 4, p. 671-678, 1983.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W. **The yeasts: A taxonomic study**. 4th ed. Amsterdam: Elsevier; 1998.

KUSS, A. V.; KUSS, V. V.; LOVATO, T.; FLÔRES, M. L. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético in vitro por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.10, p.1459-1465, 2007.

LAMICHHANE, J. R.; DACHBRODT-SAAAYDEH, S.; KUDSK, P.; MESSÉAN, A. Toward a Reduced Reliance on Conventional Pesticides in European Agriculture. **Plant Disease**, v. 100, n.1, p. 10-24, 2016.

LIMTONG, S.; KOOWADJANAKUL, N. Yeasts from phylloplane and their capability to produce indole-3-acetic acid. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.28, n.12, p. 3323-3335, 2012.

LIU. Y.; CHEN. L.; ZHANG. N.; LI. Z.; ZHANG. G.; XU. Y.; SHEN. Q.; ZHANG. R. Plant-microbe communication enhances auxin biosynthesis by a root-associated

bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 29, n.4, p.324-330. 2016.

LUZ, J. S.; LANE, R.; SILVA, D. O. Atividade enzimática de fungos endofíticos e efeito na promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Revista Caatinga**, v.19, n.2, p. 128–134, 2006.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia**. 10. ed. São Paulo: Pearson Education, 2004, 608p.

MAGALHAES, P. C.; DURAES, F. O. M.; PAIVA, E. **Fisiologia do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2002. p.23 (EMBRAPACNPMS. Circular Técnica, 22).

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Editora Ceres, 2006. 631p.

MAOR, R.; HASKIN, S.; LEVI-KEDMI, H.; SHARON, A. In plant production of indole-3-acetic acid by *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. aescynomene. **Applied Environmental Microbiology**, v.70, n.3, p.1852–1854, 2004.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 1, p. 89-111, 2004.

MARRA, L. M. **Solubilização de fosfato por bactérias e sua contribuição no crescimento de leguminosas e gramíneas**. 2012. 142 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

MENDES, G. O.; VASSILEV, N. B.; BONDUKI, V. H. A.; SILVA, I. R.; RIBEIRO JR., J. I.; COSTA, M. D. Inhibition of *Aspergillus niger* phosphate solubilization by fluoride released from rock phosphate. **Applied Environmental Microbiology**, v.79, n.16, p.4906-4913, 2013.

MESTRE, M.C.; FONTENLA, S.; BRUZONE, M.C.; FERNÁNDEZ, N.V.; DAMES, J. Detection of plant growth enhancing features in psychrotolerant yeasts from Patagonia (Argentina). **Journal of Basic Microbiology**, v. 56, n.10, p. 1098-1106, 2016.

MESTRE, M.C.; ROSA, C.A.; SAFAR, S.V.; LIBKIND, D.; FONTENLA, S.B. Yeast communities associated with the bulk-soil, rhizosphere and ectomycorrhizosphere of a *Nothofagus pumilio* forest in northwestern Patagonia, Argentina. **FEMS Microbiology Ecology**, v.78, n.3, p. 531-541, 2011.

MOE, L. A. Amino acids in the rhizosphere: from plants to microbes. **American Journal of Botany**, v. 100, n. 9, p. 1692-1705, 2013.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006, 729p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-497, 1962.

NAHAS, E. Solubilização microbiana de fosfatos e de outros elementos. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, U.; FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. (Ed.). **Inter-relação de fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. p. 467-486.

NAKAYAN, P.; HAMEED, A.; SINGH, S.; YOUNG, L.; HUNG, M.; YOUNG, C. Phosphate-solubilizing soil yeast *Meyerozyma guilliermondii* CC1 improves maize (*Zea mays* L.) productivity and minimizes requisite chemical fertilization. **Plant Soil**, v.373, n.1-2, p.301-315, 2013.

NASCIMENTO, R. P. do.; COELHO, M. A. Z.; RIBEIRO, B. D.; PEREIRA, K. S. **Microbiologia Industrial: Bioprocessos**. 1 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018, 704 p.

NASSAR, A.; EL-TARABILY, K.; SIVASITHAMPARAM, K. Promotion of plant growth by an auxin-producing isolate of the yeast *Williopsis saturnus* endophytic in maize (*Zea mays* L.) roots. **Biology Fertility Soils**, v.42, p.97–108, 2005.

NUROLITA, Y.; ADETUTUA, E.M.; GUNAWANB, H.; ZULB, D.; BALLA, A.S. Restoration of tropical peat soils: the application of soil microbiology for monitoring the success of the restoration process. Agriculture. **Ecosystems and Environment**, v. 216, p. 293-303, 2016.

NUTARATAT, P.; SRISUK, N.; ARUNRATTIYAKORN, P.; LIMTONG, S. Plant growth-promoting traits of epiphytic and endophytic yeast isolated from rice and sugar cane leaves in Thailand. **Fungal Biology**, v. 118, n.8, p. 683-694, 2014.

NUTARATAT, P.; SRISUK, N.; ARUNRATTIYAKORN, P.; LIMTONG, S. Indole-3-acetic production by newly isolated red yeast *Rhodospiridium paludigenum*. **The Journal of general and applied microbiology**, v. 61, p. 1-9, 2015.

OKUMURA, R. S.; MARIANO, D. C.; ZACCHEO, P. V. C. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada a Ciências Agrárias**, v. 4, n. 2, p. 226-244, 2011.

OLIVEIRA, T. B. de. **Leveduras produtoras de AIA e solubilizadoras de P visando a promoção de crescimento de tomateiro**. 2016. 65p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2017.

OZTURK, A.; CAGLAR, O.; SAHIN, F. Yield response of wheat and barley to inoculation of plant growth promoting rhizobacteria at various levels of nitrogen fertilization. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 166, n.2, p. 262-266, 2003.

PANKHURST, C. E.; LYNCH, J. M. The role of the soil biota in sustainable agriculture. In: PANKHURST, C. E.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R.; GRACE, P. R., eds. **Soil Biota: management in sustainable farming systems**. Melbourne: CSIRO, 1994. p. 3-12.

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

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; CAETANO, L. C. Microrganismos endofíticos em plantas: status atual e perspectivas. **Boletim Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 3, n. 4, p. 69-72, 2004.

PELCZAR, J. R.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2 ed. São Paulo: Makron Books, v.1, 1997.

PICARD, C.; BOSCO, M. Maize heterosis affects the structure and dynamics of indigenous rhizospheric auxins-producing *Pseudomonas* populations. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 53, n.3, p. 349-357, 2005.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. Regulando o crescimento e o desenvolvimento: Os hormônios vegetais. In: RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**, 6. ed. Guanabara Kogan S.A., p. 649 - 674, 2001.

RIBEIRO, C. M.; CARDOSO, E. J. B. N. Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*). **Microbiological Research**, v. 16, n. 2, p. 69-78, 2012.

RINCÓN, A.; PRIHA, O.; SOTTA, B.; BONNET, M. LE TACON, F. Comparative effects of auxin transport inhibitors on rhizogenesis and mycorrhizal establishment of spruce seedlings inoculated with *Laccaria bicolor*. **Tree Physiology**, v.23, n.11, p.785–791, 2003.

ROCHA, J. **Solubilização in vitro de fosfato por *Torulaspota globosa***. 2017. 59p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2017.

ROSA, M. M. **Avaliação de leveduras isoladas de áreas agrícolas como agentes no controle biológico de fitopatógenos**. 121f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Microbiologia Aplicada) - Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 2009.

ROSA. M.M. TAUKE-TORNISIELO. S.M.; RAMPAZZO. P.E.; CECCATO-ANTONINI. S.R. Evaluation of the biological control by yeast *Torulaspota globosa* against *Colletotrichum sublineolum* in sorghum. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.26, n.8, p. 1491-1502, 2010.

ROSA-MAGRI, M. M.; AVANSINI, S. H.; LOPES-ASSAD, M. L.; TAUKE TORNISIELO, S. M.; CECCATO-ANTONINI, S. R. Release of potassium from rock powder by the

yeast *Torulaspota globosa*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.55, n. 4, p. 577-582, 2012.

ROSSI, M. J. **Tecnologia para produção de inoculantes de fungos ectomicorrízicos utilizando cultivo submerso em biorreator airlift**. 2006. 188 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2006.

SAHARAN, B.; NEHRA, V. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. **Life Sciences and Medicine Research**, v. 21, p. 1-30, 2011.

SALANTUR A.; OZTURK A. AND AKTEN S. Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to Inoculation with *Rhizobacteria*. **Plant, Soil and Environment**, v. 52, n. 3, p. 111-118, 2006.

SANTOS, G. de A.; SILVA, L. S. da.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. de O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2. ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008. 654 p.

SASSE, J.; MARTINOIA, E.; NORTHEN, T. Feed Your Friends: Do Plant Exudates Shape the Root Microbiome?. **Trends In Plant Science**, v. 23, n. 1, p.25-41, 2018.

SCHLINDWEINI, G; VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; AZAMBUJA, A. C.; GRANADA, C. E.; GABIATTI, N. C.; PRATES, F.; STUMPF, R. Influência da inoculação de rizóbios sobre a germinação e o vigor de plântulas de alface. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p.658-664, 2008.

SHAO, J.; XU, Z.; ZHANG, N.; SHEN, Q.; ZHANG, R. Contribution of índole-3 acetic acid in the plant growth promotion by the rhizospheric strain *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. **Biololy and Fertility of Soils**, v. 51, n.3, p. 321-330, 2015.

SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007, 312p.

STRELETSKII, R.A.; KACHALKIN, A.V.; GLUSHAKOVA, A.M.; DEMIN, V.V.; CHERNOV, I.Y. Quantitative determination of indole-3-acetic acid in yeasts using high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry. **Microbiology**, v. 85, n.6, p. 727-736, 2016.

SUN, P.; FANG, W.; SHIN, L.; WEL, J.; FU, S.; CHOU, J. Indole-3-Acetic Acid-Producing Yeast in Phyllosphere of the Carnivorous Plant *Drosera indica* L. **Plos One**, v.9, p.1-22, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 719p., 2004.

TOZLU, E.; KARAGÖZ, K.; BABAGIL, G.E.; DIZIKISA, T.; KOTAN, R. Effect of some plant growth promoting bacteria on yield, yield components of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Aras 98). **Journal of the Faculty of Agriculture of Ataturk University**, v. 43, p. 101-106, 2012.

TSAVKELOVA, E. A.; KLIMOVA, S. Y.; CHERDYNTSEVA, T.A.; NETRUSOV, A.I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.42, n.2, p.117–126, 2006.

TSAVKELOVA, E.A.; CHERDYNTSEVA, T.A.; KLIMOVA, S.Y.; SHESTAKOV, A.I.; BOTINA, S.G.; NETRUSOV, A.I. Orchid-associated bacteria produce indole-3- acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin. **Archives of Microbiology**, v.188, n.6, p.655–664, 2007.

VAN DER HEIJDEN, M.G.; BARDGETT, R.D.; VAN STRAALLEN, N.M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. **Ecology Letters**, v.11, n.3, p. 296-310, 2008.

VERBON, E. H.; LIBERMAN, L. M. Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root development. **Trends in plant science**, v. 21, n. 3, p. 218-229, 2016.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E.L.; MARRA, R.; WOO, S.L.; LORITO, M. *Trichoderma* plant pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v.40, n.1, p. 1-10, 2008.

VITOUSEK, P. M.; CASSMAN, K.; CLEVELAND, C.; CREWS, T.; FIELD, C. B.; GRIMM, N. B.; HOWARTH, R. W.; MARINO, R.; MARTINELLI, L.; RASTETTER, E. B. SPRENT, J. I. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. **Biogeochemistry**, v.57/58, n.1, p.1-45, 2002.

VORONEY, R. P. The Soil Habitat. In: PAUL, E. A. **Soil Microbiology and Biochemistry**. 3. ed. London: Elsevier, p.25-49, 2007.

WANG, W. L.; CHI, Z. M.; LI, J.; WANG, X. H. Siderophore production by the marine derived *Aureobasidium pullulans* and its antimicrobial activity. **Bioresource Technology**, v.100, n. 9, p.2639-2641, 2009.

WENTZEL, L. C. P. **Diversidade de fungos de solos antárticos e prospecção de enzimas ligninolíticas**. 2017. 138 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, Rio Claro, 2017.

WESTON, L. A.; MATHESIUS, U. Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy. **Journal of Chemical Ecology**, v. 39, n. 2, p. 283-297, 2013.

WHITELAW, M. A. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. **Advances in Agronomy**, v. 69, p. 99-151, 2000.

WILLIAMS, L. E.; MILLER, A. J. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 52, p.659-688, 2001.

XIN, G.; GLAWE, D.; DOTY, S. L. Characterization of three endophytic, indole-3-acetic acid-producing tests occurring in *Populus* trees. **Mycological Research**, v.113, p.973 – 980, 2009.

YURKOV, A.M.; WEHDE, T.; FEDERICI, J.; SCHÄFER, A.M.; EBINGHAUS, M.; LOTZE-ENGELHARD, S.; MITTELBACH, M.; PRIOR, R.; RICHTER, C.; RÖHL, O.; BEGEROW, D. Yeast diversity and species recovery rates from beech forest soils. **Mycological Progress**, v.15, n.8, p. 845-859, 2016.

ZHANG, H.; KIM, M. S.; SUN, Y.; DOWD, S. E.; SHI, H.; PARE, P. W. Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 21, n. 6, p. 737-744, 2008.