



CAROLINA ALESSANDRA DE ALMEIDA HAYASHIBARA

RESPOSTA DO FEIJOEIRO A FUNGOS ENDOFÍTICOS

**LAVRAS - MG
2017**

CAROLINA ALESSANDRA DE ALMEIDA HAYASHIBARA

RESPOSTA DO FEIJOEIRO A FUNGOS ENDOFÍTICOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas para a obtenção do título de Mestre.

Prof^a Dr^a Elaine Aparecida de Souza
Orientadora

Prof^a Dr^a Patrícia Gomes Cardoso
Coorientadora

LAVRAS - MG
2017

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Hayashibara, Carolina Alessandra de Almeida.

Resposta do feijoeiro a fungos endofíticos / Carolina
Alessandra de Almeida Hayashibara. - 2017.

41 p. : il.

Orientador(a): Elaine Aparecida de Souza.

Coorientador(a): Patricia Gomes Cardoso

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Acremonium Muscodor, Simplicillium. 2. Phaseolus vulgaris
L. 3. Promoção de crescimento em plantas. I. Souza, Elaine
Aparecida de. II. Cardoso, Patricia Gomes. III. Título.

CAROLINA ALESSANDRA DE ALMEIDA HAYASHIBARA

RESPOSTA DO FEIJOEIRO A FUNGOS ENDOFÍTICOS

COMMON BEAN RESPONSE TO ENDOPHYTIC FUNGI

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 18 de janeiro de 2017.

Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros - UFLA

Dr. Magno Antonio Patto Ramalho - UFLA

Dra. Maria Cristina Mendes Costa – UNILAVRAS

Prof^a Dr^a Elaine Aparecida de Souza
Orientadora

Prof^a Dr^a Patrícia Gomes Cardoso
Coorientadora

LAVRAS - MG
2017

*À minha mãe, que sempre me apoiou, meu exemplo de força,
sem ela nada do que conquistei seria possível.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida.

À minha família, pelo amor, carinho, atenção, cuidado e pelo apoio em todos os momentos.

À Universidade Federal de Lavras, principalmente ao Departamento de Biologia.

Ao programa de pós graduação Genética e Melhoramento de Plantas, aos professores pelos ensinamentos, principalmente a minha orientadora Elaine Aparecida de Souza pela paciência, por todo conhecimento transmitido e aos funcionários Lilian, Iron, Rafa, Zélia, Lamartine, Ramon e os demais. A professora Patrícia Gomes Cardoso, pela orientação, por toda ajuda e ao seu laboratório (BIOGEN) por conceder o material utilizado neste trabalho.

Ao grupo do Laboratório de Resistência de Plantas à Doenças, por toda ajuda durante a condução dos meus experimentos, ao Miller que foi de grande ajuda sempre, a Larissinha pela ajuda essencial na reta final.

Aos meus colegas e amigos do GEN que contribuíram na minha formação acadêmica e crescimento pessoal.

Aos Apáticos e agregados, que estiveram presente durante o mestrado, que tornaram os momentos mais difíceis em momentos mais leves, com risadas e companheirismo. Que me ajudaram desde as disciplinas até no experimento (Emanoel, Fernanda Castro, Fernanda Souza, Margot, Rafael e Roxane).

Aos companheiros de casa, Margot, Isabella, Paulinho e Roxane, pela companhia e por me aturarem nos momentos mais complicados.

Aos meus amigos mais distantes, que mesmo longe sempre acreditaram em mim e me apoiaram, apesar de toda distância, vocês fizeram parte da realização desse sonho, em especial, Anelise, Andréia, Jaqueline e Luis Gustavo.

À FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Meus sinceros agradecimentos.

"Cuide dos meios. O fim cuidará de si mesmo."

Mahatma Gandhi

RESUMO

Fungos endofíticos são microrganismos que vivem uma parte de sua vida em um hospedeiro, sem causar danos aparentes. Esses fungos têm sido utilizados com diferentes objetivos, como controle biológico de patógenos, como produtores de compostos orgânicos voláteis e promotores do crescimento de plantas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de 12 isolados de fungos endofíticos, pertencentes aos gêneros *Acremonium*, *Muscodor* e *Simplicillium*, no desenvolvimento de duas cultivares de feijão (BRSMG Madrepêrola e BRSMG União). Para a inoculação dos fungos, as sementes das cultivares foram colocadas em placas de Petri em contato com os fungos até o momento da emissão da radícula. Posteriormente, as sementes foram semeadas em vasos e estes foram mantidos em casa de vegetação até o momento da colheita. Como testemunha foram utilizadas sementes das cultivares sem inoculação. Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação, em esquema fatorial 13x2, sendo 12 fungos endofíticos e a testemunha e as duas cultivares de feijão. Os experimentos foram conduzidos em delineamento de blocos completos casualizados, com três repetições. As características avaliadas foram: altura de planta (AP), comprimento de raiz (CR), índice foliar (IF), número de dias para o florescimento (NDF), número de vagens por planta (X), número de grãos por vagem (Y), massa de 100 grãos (Z) e produtividade (W). A partir dos resultados obtidos, observou-se que houve diferença significativa para as características avaliadas nas duas épocas, sendo que na primeira época a produtividade foi de maior magnitude. Na análise de variância conjunta e pelo Teste de Dunnett observou-se que os fungos endofíticos *Acremonium* sp. (C20), *M. vitigenus* (C19) e *Simplicillium* sp. (C18), quando inoculados nas cultivares, proporcionaram um acréscimo na produtividade de grãos em até 48% em relação a testemunha, se mostrando promissores no incremento da produtividade do feijoeiro.

Palavras-Chave: *Acremonium*. *Muscodor*. *Simplicillium*. *Phaseolus vulgaris* L.. Promoção de crescimento em plantas.

ABSTRACT

Endophytic fungi are microorganisms that live a part of their life in a host, not causing apparent damage. These fungi have been used for different purposes, such as biological control of pathogens, as producers of volatile organic compounds and promoters of plant growth. Thus, the aim of this work was to evaluate the effect of 12 endophytic isolates belonging to the genus *Acremonium*, *Muscodora* and *Simplicillium* on the development of two common bean cultivars (BRSMG Madrepérola and BRSMG União). For fungi inoculation, cultivar seeds were placed in Petri dishes in contact with fungi radicle emission. Subsequently, seeds were sown in pots and kept in a greenhouse until harvest. Cultivar seeds inoculated were used as controls. Two experiments were carried out in a greenhouse, in a factorial scheme 13x2, with 12 endophytic fungi and control and two common bean cultivars. Experiments were conducted in a randomized complete block design with three replicates. Evaluated traits were: plant height (AP), root length (CR), leaf index (IF), number of days for flowering (NDF), number of pods per plant (X), number of grains per pod (Y), mass of 100 grains (Z) and yield (W). From the obtained results, it was observed that there was a significant difference for the characteristics evaluated in two seasons, and yield was of greater magnitude in the first season. In the analysis of joint variance and the Dunnett's test, it was observed that endophytic fungi *Acremonium* sp. (C20), *M. vitigenus* (C19) and *Simplicillium* sp. (C18), when inoculated in cultivars, provided an increase in grain yield by up to 48% compared to control, showing promise in increasing bean productivity.

Key words: *Acremonium*. *Muscodora*. *Simplicillium*. *Phaseolus vulgaris* L.. Promotion of plant growth.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 Cultura do feijoeiro	12
2.2 Morfologia do feijoeiro.....	12
2.3 Fungos endofíticos	13
2.3.1 Fungos endofíticos no crescimento de plantas	15
2.3.2 Gêneros <i>Muscodor</i> , <i>Acremonium</i> e <i>Simplicillium</i>	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Isolados de fungos endofíticos utilizados	19
3.2 Cultivares de feijoeiro utilizadas.....	19
3.4 Preparo do inóculo e inoculação no feijoeiro	19
3.5 Avaliação dos fungos endofíticos no feijoeiro	20
3.6 Análise estatística.....	21
4 RESULTADOS	23
5 DISCUSSÃO	28
6 CONCLUSÕES.....	32
REFERÊNCIAS	33
APÊNDICE	38

1 INTRODUÇÃO

Microrganismos endofíticos vivem no interior de plantas sem causar dano aparente ao hospedeiro (PETRINI, 1991). Eles podem assumir um papel essencial no desenvolvimento vegetal, devido a sua atuação como biocontroladores de fitopatógenos e herbívoros, e na produção de substâncias promotoras de crescimento (NETO; AZEVEDO; ARAÚJO, 2002). Também têm sido utilizados como fonte de moléculas anticancerígenas (CHANDRA, 2012), antifúngicos devido à presença de compostos orgânicos voláteis (SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ et al., 2015) e no biocontrole de patógenos (XIANG et al., 2016), sendo este mais explorado pela comunidade científica. A produção de fitormônios por fungos endofíticos pode também estimular o crescimento do hospedeiro, o que tem sido observado em algumas espécies vegetais, tais como, a pinha, a banana e o arroz (DAI; YU; LI, 2008; SILVA et al. 2006; TING et al. 2008; WAQAS et al. 2012).

Alguns fungos endofíticos têm sido caracterizados pela produção de compostos orgânicos voláteis, como por exemplo, fungos dos gêneros *Muscodor*, *Acremonium* e *Simplicillium* que têm sido isolados do cafeeiro (CARDOSO; PEREIRA; MONTEIRO, 2013; HONGSANAN et al., 2015). Esses compostos orgânicos voláteis podem apresentar atividade antimicrobiana, bem como, contribuir no aumento do crescimento e desenvolvimento das plantas (HARDOIM et al., 2015; MACÍAS-RUBALCAVA et al., 2010). A atividade de *Muscodor cinnamomi* como fungo endofítico, na promoção do crescimento de plantas de tomateiro tem sido observada por Suwannarach et al. (2015). O fungo endofítico *Acremonium lolii* também se mostrou eficiente na promoção do crescimento de azévem (LATCH; HUNT; MUSGRAVE, 1985). No entanto, a maioria dos relatos da literatura se referem a trabalhos utilizando bactérias como microrganismos endofíticos no crescimento de plantas (KONG et al., 2016; PHAM et al., 2017).

A cultura do feijoeiro é amplamente distribuída no Brasil e no mundo, e tem grande importância nutricional, econômica e social. Esta leguminosa é cultivada por agricultores familiares e também, por produtores que utilizam alta tecnologia (LIMA, 2015). Embora, há relatos na literatura sobre a atividade dos fungos endofíticos como estimuladores do crescimento e do desenvolvimento nas plantas hospedeiras, o conhecimento acerca da sua contribuição em grandes culturas ainda é limitado. Isolados endofíticos dos gêneros *Muscodor*, *Acremonium* e *Simplicillium* têm sido avaliados no controle biológico de fitopatógenos do feijoeiro em testes *in vitro* e *in vivo*. Na avaliação *in vivo* tem sido observado visualmente um

incremento no desenvolvimento do feijoeiro (GOMES et al., 2016; NAVES et al., 2016). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de isolados endofíticos dos gêneros *Muscodor*, *Acremonium* e *Simplicillium* na promoção do crescimento do feijoeiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do feijoeiro

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a espécie mais cultivada do gênero *Phaseolus*, entre as leguminosas é a mais importante para consumo humano, fazendo parte da dieta da maioria dos brasileiros. A cultura possui alta relevância socioeconômica para o Brasil, que é maior produtor e consumidor dessa cultura (LIMA, 2015).

O feijão pode ser cultivado praticamente durante todo o ano. Em Minas Gerais, pode ser realizada a semeadura em três safras: safra das águas, safra da seca e safra de inverno. O feijão é cultivado em praticamente todos os estados, desde agricultores familiares até grandes empresas rurais (LIMA, 2015). De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2016) para a primeira safra de 2015/2016, a produtividade de feijão tipo Carioca está estimada em 1619 kg/ha, para a segunda safra em 1234 kg/ha e para a terceira em 1105 kg/ha.

2.2 Morfologia do feijoeiro

O feijão possui dois principais centros de origem, o primeiro na região central das Américas, principalmente no México, onde se originou a maioria das cultivares de grãos pequenos. O segundo localiza-se no Sul dos Andes, principalmente no norte da Argentina e no sul do Peru, onde se originaram as cultivares de sementes grandes, semelhantes a cultivar Jalo. (SANTOS et al., 2015). O feijoeiro pertence ao Reino Vegetal, à classe Dicotyledoneae, ordem Rosales, família Fabaceae, gênero *Phaseolus* L. e espécie *Phaseolus vulgaris* L. (SANTOS et al., 2015). A planta adulta do feijão é composta por raízes, caule ou haste principal, folhas e hastes axilares e inflorescência, fruto e semente (SILVA, 2009).

O sistema radicular é típico de uma dicotiledônea anual, sendo composto por raiz principal, raízes basais (primeiras raízes que desenvolvem na base do sistema radicular), raízes adventícias (surgem da porção subterrânea do hipocótilo e crescem horizontalmente no solo superficialmente) e raízes laterais que são oriundas da raiz principal, das raízes basais e adventícias (RUBIO; LYNCH, 2007; VIEIRA; CARNEIRO; LYNCH, 2008).

Apresenta dois tipos de folhas: simples e composta. As simples são constituídas por duas folhas, chamadas de folhas primárias, formadas dentro da semente e aparecem no segundo

nó caulinar, que caem antes do completo desenvolvimento do feijoeiro. As folhas compostas, ou trifoliadas, aparecem a partir do terceiro nó do caule. O folíolo central é simétrico e acuminado; os dois folíolos laterais são assimétricos e também acuminados (SANTOS et al., 2015). Para avaliar a dimensão de folha, Antunes et al. (2001) propuseram um índice que é baseado na razão das medidas em centímetros de comprimento (da base até o ápice, ao longo da nervura central) e largura (da parte mediana da folha, perpendicular à nervura central) do folíolo central. Segundo os autores deste trabalho, a avaliação deve ser feita, preferencialmente nas folhas entre o quinto e o sexto nó, por apresentarem índices mais estáveis. Este índice $I_{C/L}$ tem se mostrado adequado para discriminação de diferentes cultivares de feijão.

De acordo com a forma do crescimento do caule, o feijoeiro pode ser arbustivo ou prostrado. O crescimento pode ser determinado ou indeterminado. O crescimento determinado se caracteriza pelo caule e os ramos laterais apresentarem inflorescência terminal. Por outro lado, o crescimento indeterminado é caracterizado por inflorescências axilares, isto é, desenvolvem-se nas axilas das folhas e a floração inicia-se da base para o ápice da planta (SILVA, 2009). As flores são dispostas em inflorescências compostas, que apresentam de duas a seis flores e são compostas por um pedúnculo que sustenta os botões florais. As flores podem ser de cor branca, rósea, violeta ou ainda ter mais de uma cor ou tonalidades diferentes distribuídas uniformemente por toda a corola (SILVA, 2003).

O fruto do feijoeiro é uma vagem formada por duas partes que são denominadas valvas (SILVA, 2003). O número de vagens por planta é variável, sendo determinado pela população de plantas, pela produção de flores por planta e pelo vingamento floral, ou seja, o número de flores que desenvolvem vagens (FANCELLI, 2009; ZÍLIO et al., 2011). As sementes possuem alto teor de carboidratos e proteínas, e podem apresentar várias formas: arredondada, elíptica, reniforme ou oblonga. Seu tamanho pode variar de muito pequenas (<20g/100 sementes) a grandes (>40g/100 sementes) e também apresenta ampla variabilidade de cores (SILVA, 2003). Para avaliar a produtividade de grãos do feijoeiro geralmente são utilizados os componentes primários que são o número de vagens, o número de sementes por vagem e o peso médio de grãos (RIBEIRO; DOMINGUES; ZEMOLIN, 2014).

2.3 Fungos endofíticos

Um dos conceitos mais utilizados sobre fungos endofíticos define que: “microrganismos endofíticos habitam o tecido vegetal durante alguma fase do seu ciclo de vida, podendo colonizar o tecido interno da planta sem causar doença ao hospedeiro” (PETRINI, 1991). Estes fungos habitam folhas, pecíolos, estruturas reprodutivas, galhos, cascas e raízes de plantas (FAETH; FAGAN, 2002). Vivem dentro dos tecidos vegetais, fazem parte da comunidade microbiana da planta (PORRAS-ALFARO; BAYMAN, 2011) e podem colonizar os tecidos vegetais ocupando espaços intercelulares (OLIVEIRA, 2010). Eles têm sido isolados de diferentes espécies vegetais, tais como árvores tropicais (BAYMAN et al., 1998), palmeiras (FRÓHLICH; HYDE; PETRINI, 2000), plantas de café (VEGA et al., 2006), plantas medicinais (SHANKAR NAIK; SHASHIKALA; KRISHNAMURTHY, 2008), seringueiras (GAZIS; CHAVERRI, 2010), cacau e cupuaçu (HANADA et al., 2010). O cafeeiro (*Coffea arabica*) tem se mostrado um reservatório com ampla diversidade de fungos endofíticos, os quais podem ser isolados de vários tecidos vegetais (VEGA et al., 2010). No feijoeiro também foram encontrados fungos endofíticos do gênero *Colletotrichum*, que se diferem do *C. lindemuthianum*, causador da antracnose do feijoeiro (GONZAGA et al., 2015).

Normalmente, podem penetrar nas plantas por aberturas naturais como estômatos e hidatódios ou feridas causadas por insetos ou fungos patogênicos. Em plantas com propagação vegetativa, eles passam de uma planta para a outra por meio das estruturas utilizadas na propagação e alguns também podem ser transmitidos via sementes (AZEVEDO, 1998). Os fungos endofíticos podem ser veiculados por transmissão vertical ou horizontal. Na transmissão vertical são propagados por meio de sementes para os descendentes da planta hospedeira. Na transmissão horizontal, são originadas colonizações, como a formação de um estroma fúngico, localizadas em tecidos e órgãos vegetais, sendo esta a forma mais comum de transmissão. A transmissão também pode ocorrer por meio de ventos ou ainda por meio de animais, como moscas e formigas (SAIKKONEN et al., 2004; SCHARDL et al., 1997).

Schulz et al., (2015) sugeriram a hipótese de que para os fungos endofíticos conseguirem crescer e sobreviver dentro das plantas, estes precisam manter um equilíbrio antagonista não só com seu hospedeiro, mas também com concorrentes microbianos, como bactérias e fungos patogênicos. Os metabólitos secundários produzidos pelos endofíticos são importantes para manter esse equilíbrio, resultando em uma simbiose compatível e uma planta saudável. Os sistemas de transporte de nutrientes dos endofíticos são complexos, o que pode refletir em suas várias estratégias de estilo de vida para aquisição de nutrientes dentro das plantas. O genótipo

do hospedeiro, o estágio de desenvolvimento da planta, o meio ambiente do qual os endófitos se originam (solo e tecidos vegetais), contribuem para a comunidade endofítica (HARDOIM et al., 2015).

Fungos endofíticos têm sido relatados por demonstrarem influência em diversas funções ecológicas relacionadas ao seu hospedeiro, como proteção contra herbívoros e fitopatógenos, produção de hormônios de crescimento vegetal e de compostos bioativos, tais como, antimicrobianos e na participação da decomposição da matéria orgânica vegetal. De um modo geral, todas as plantas possuem associações simbióticas com fungos endofíticos, estes podem ser hospedeiro-específico ou generalistas (AZEVEDO et al., 2000; FERNANDES, 2015).

2.3.1 Fungos endofíticos no crescimento de plantas

A associação planta-endofítico pode proteger as plantas hospedeiras contra herbívoros e patógenos, atuar na promoção do crescimento das raízes e partes aéreas das plantas, e também aumentar a resistência a estresses bióticos e abióticos (HALLMAN et al., 1997; NETO; AZEVEDO; ARAÚJO, 2002). Os endofíticos que estão envolvidos na promoção de crescimento de plantas exercem essa função a custo da obtenção de nutrientes fornecidos pela planta hospedeira (LONG; SCHMIDT; BALDWIN, 2008; SINGH; GILL; TUTEJA, 2011). Alguns fungos produzem substâncias reguladoras do crescimento, que podem aumentar o desenvolvimento de determinadas partes da planta (LATCH; HUNT; MUSGRAVE, 1985). Alguns pesquisadores sugerem que a produção de hormônios de crescimento e a transferência de minerais para a rizosfera podem explicar os efeitos sobre a promoção de crescimento vegetal (HARMAN et al., 2004). No entanto, a infecção por fungos endofíticos também pode resultar na redução do crescimento das plantas (LATCH; HUNT; MUSGRAVE, 1985).

Em um trabalho realizado por Silva et al. (2006), vinte e nove isolados de fungos endofíticos foram selecionados e avaliados quanto à produção de enzimas extracelulares e à capacidade de estimular o crescimento de mudas de pinha. Onze isolados promoveram eficientemente o crescimento vegetal. Os índices de aumento da biomassa seca da parte aérea de mudas de pinha, foram variáveis sendo que nenhum isolado promoveu a biomassa seca da raiz. Waqas et al. (2015), demonstraram a eficácia e capacidade dos fungos endofíticos *Penicillium Citrinum* LWL4 e *Aspergillus terreus* LWL5 no controle de *Sclerotium rolfsii*, que causa podridão em plantas de girassol, e na promoção de crescimento dessas plantas. Neste

trabalho, as raízes de mudas de girassol foram tratadas com meio de cultura contendo estes dois fungos, durante o transplante das mudas das bandejas para os vasos. Além disso, para promover ainda mais a associação entre planta e endofítico foram aplicados em intervalos semanais, 60 mL de meio de cultura contendo os endofíticos. Neste trabalho observou que estes fungos demonstraram efeito positivo no aumento do crescimento das plantas de girassol, mesmo durante a incidência da doença.

Em um estudo do efeito de fungos endofíticos na cultura do tomate, a espécie *Muscodor cinnamomi* se mostrou eficiente no controle da podridão causada por *Rhizoctonia solani* AG-2, além de promover o aumento do comprimento radicular, massa seca da parte aérea e peso seco de raiz. Desta forma, os autores concluíram que é possível a utilização deste fungo na promoção de crescimento de plantas e no controle biológico para eliminar doenças de solo sem efeitos adversos em plantas, substituindo o uso de produtos químicos. Para a inoculação deste fungo nas plantas de tomate, foi utilizado grão de centeio, onde foram inoculados o fungo endofítico e o fungo patogênico, até o grão estar coberto pelos dois fungos. Em seguida, os inóculos foram raspados e misturados ao solo. Também foi observado que *in vitro* o fungo *M. Cinnamomi* produz AIA (ácido indolil-3-acético), um fitormônio que desempenha um papel importante na promoção do crescimento de plantas (SUWANNARACH et al., 2015). No trabalho realizado por Elena et al. (2011), foi observado que quando inoculado o fungo *Metarhizium anisopliae* em tomate, houve aumento significativo da altura da planta, comprimento das raízes, parte aérea e peso seco da raiz quando comparados com o controle.

Ting et al. (2008), determinaram o potencial dos endofíticos na promoção do crescimento da bananeira por meio da introdução de estirpes fúngicas e bacterianas isoladas de raízes de bananeira selvagens em plantas saudáveis e doentes infectadas com *Fusarium*. A avaliação foi feita medindo-se quatro parâmetros de crescimento: altura da planta, diâmetro do pseudocaule, massa de raízes e número total de folhas. Um isolado fúngico e um bacteriano se mostraram os melhores na promoção do crescimento e como agentes na tolerância a *Fusarium*. Dai, Yu e Li (2008), observaram que isolados do fungo endofítico *Fusarium* spp. estimularam o crescimento de *Euphorbia pekinensi*, para a inoculação destes fungos na planta foi pulverizado nas folhas das plântulas 5 mL de água contendo esporos dos fungos endofíticos e a inoculação se repetiu após 10 dias. As plântulas foram avaliadas quanto ao peso, 40 dias após a primeira inoculação. Também foi observada a produção de fitormônios, AIA e ácido abscísico, pelos fungos endofíticos. Hamayun et al. (2010) também investigaram o potencial de

fungos endofíticos na promoção do crescimento de pepino (*Cucumis sativus* L.) e observaram aumento do crescimento do broto das plantas inoculadas em relação ao controle, e também a produção de giberelinas por estes isolados. No entanto, trabalhos sobre a produção de giberelinas por fungos endofíticos são escassos, o autor salienta que as giberelinas desempenham um papel vital no crescimento de plantas. O comportamento de fungos endofíticos em situações de estresse abióticos como salinidade e seca foi testado em um mutante anão de arroz. Foi observado que a simbiose aumentou de maneira significativa a assimilação de nutrientes como potássio, cálcio e magnésio quando comparadas com o controle, sem a presença dos fungos (WAQAS et al., 2012).

2.3.2 Gêneros *Muscodor*, *Acremonium* e *Simplicillium*

O gênero *Muscodor*, não produz esporos, o micélio é composto por hifas esbranquiçadas em formato de corda, entrelaçadas e de diâmetro variável. Pertence à família Xylariace e se caracteriza pela capacidade de produzir compostos orgânicos voláteis (EZRA; HESS; STROBEL, 2004). Espécies do gênero *Muscodor* produzem compostos orgânicos voláteis (COV) que são letais para fungos patogênicos de humanos, bactérias, nematóides e determinados insetos (STROBEL, 2011). Este fungo possui grande potencial para uso na agricultura, na indústria e medicina (STROBEL, 2006).

Algumas espécies de *Muscodor* já vêm sendo estudadas, como por exemplo, *Muscodor albus* extraídos da árvore da canela no final dos anos 1990, como produtores de compostos orgânicos voláteis (STROBEL, 2006); *M. yucatanensis* isolados da espécie asbórea *Bursera simaruba* (Burseraceae) quanto à presença de compostos orgânicos voláteis e sua composição química (MACÍAS-RUBALCAVA et al., 2010); *M. roseus* e seus efeitos de micofumigação contra patógenos (STINSON et al., 2005); *M. Crispans* isolados do abacaxi selvagem, possuem propriedades antibióticas (MITCHELL et al., 2010); *M. vitigenus* descritos como os únicos que produzem naftaleno, alterando o comportamento de insetos (DAISY et al., 2002) e *M. cinnamomi* na promoção de crescimento de plantas e como biocontrole (SUWANNARACH et al., 2015).

Korpi, Jarnberg e Pasanen (2009) observaram que compostos orgânicos voláteis foram produzidos por espécies, como *Acremonium*. Monteiro (2016) observou que *Acremonium* produz uma mistura de compostos orgânicos voláteis com atividade antimicrobiana contra

fungos patogênicos, quando cultivados in vitro. Latch; Hunt; Musgrave (1985), em um trabalho com *Lolium perene* L. observaram que o fungo endofítico *Acremonium lolii* quando presente na planta aumentou a matéria seca em 38% em relação às plantas não infectadas. Aumentos significativos foram observados na área foliar total, número de perfilhos, crescimento de folhas, pseudocaules e raízes. Já Lewis et al. (1996), estudaram o efeito do fungo endofítico *A. lolii* no crescimento e na absorção de nitrogênio de *Lolium perenne*, e foi observado efeito mínimo sobre o crescimento e na economia de nitrogênio da planta. Fungos endofíticos do gênero *Acremonium*, isolados de plantas de arroz, também se mostraram eficientes na prevenção de brusone (*Magnaporthe grisea*) em plantas de arroz, em ensaios in vitro (ATUGALA; DESHAPPRIYA; 2015). Fungos deste mesmo gênero também foram eficientes no controle biológico da broca do cacaueteiro (*Conopomorpha cramerella*) (AMIN, 2016).

Quatro espécies são conhecidas do gênero *Simplicillium*, *S. obclavatum*, *S. lamellicola* e *S. lanosoniveum* e *S. chinense* (LIU; CAI, 2012). *S. obclavatum* foram isolados do solo, produziram xilanase e endoglucanases durante o crescimento em farelo de trigo em fermentação com estado sólido (ROY et al., 2013). O fungo *S. lamellicola* pode suprimir o desenvolvimento de doenças bacterianas de plantas por meio da produção de metabólitos antibacterianos (LE DANG et al., 2014). Saruhan et al. (2015), verificaram que dois isolados de *S. lamellicola*, isolados de pomares de avelã, foram eficientes de forma semelhante aos inseticidas, azadiractina e imidacloprid, no controle de pulgões em folhas de feijoeiro, em condições laboratoriais. *S. lanosoniveum* foram isolados de folhas de soja infectadas com *Phakopsora pachyrhizi*, causador da ferrugem de soja, e apresentaram capacidade de inibir o patógeno, podendo ser utilizado no controle biológico dessa doença (WARD et al., 2012). Isolados do gênero *Simplicillium* foram relatados como produtores de compostos orgânicos voláteis e inibidores do crescimento de *Fusarium verticillioides* em sementes de milho (MONTEIRO, 2016).

Na agricultura, os compostos orgânicos voláteis têm sido utilizados como uma estratégia de controle biológico para prevenir o desenvolvimento de fitopatógenos e também para a promoção do crescimento de plantas. Na indústria de alimentos, também são utilizadas estratégias de controle biológico para impedir o crescimento de fungos após a colheita (micofumigação) (MORATH; HUNG; BENNETT, 2012). Como mencionado, *Muscodor*, *Acremonium* e *Simplicillium* são espécies produtoras de compostos orgânicos voláteis e podem ser promissoras no controle biológico de fitopatógenos (GOMES et al., 2016; MONTEIRO,

2016; NAVES et al., 2016). Devido ao conhecimento que se tem sobre a capacidade de alguns fungos endofíticos na promoção do crescimento de plantas, é pertinente investigar a ação de fungos destes gêneros em cultivares de feijão.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Resistência de Plantas à Doenças e em casa de vegetação do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

3.1 Isolados de fungos endofíticos utilizados

Foram utilizados 12 isolados de fungos endofíticos, pertencentes ao Laboratório de Genética e Bioprospecção de Fungos Filamentos (BIOGEN) da UFLA. Estes isolados foram obtidos de folhas e hastes de plantas de café nativas, na Zona da Mata, Viçosa, Minas Gerais (HONGSANAN et al., 2015), pertencem às espécies *Muscodor coffeanum* (COAD 1842, COAD 1899, COAD 1900), *M. vitigenus* (C20, HZM10, HZM39 e HZM41), *M. yucatanensis* (ZM64 e HZM60), ao gênero *Acremonium* sp. (C19) e ao gênero *Simplicillium* sp. (C18 e C12). Os isolados foram mantidos em meio BDA em BOD com fotoperíodo a 25°C.

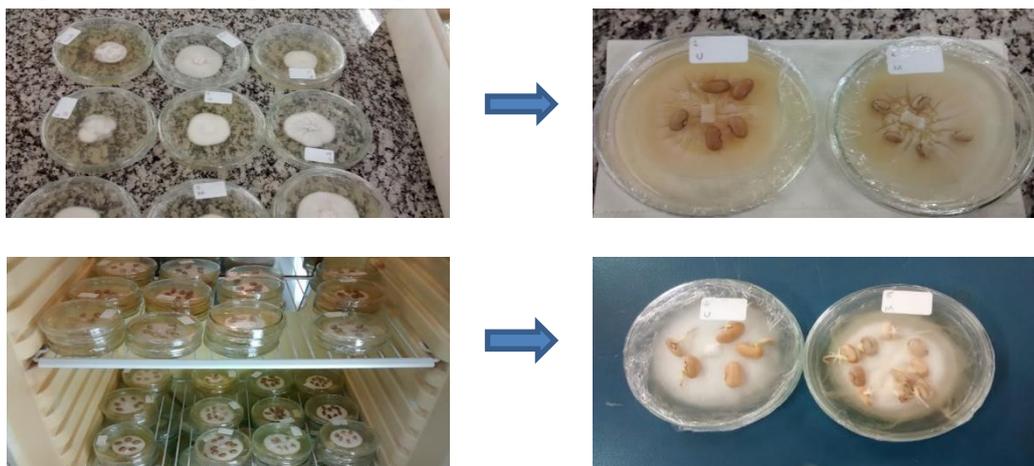
3.2 Cultivares de feijoeiro utilizadas

Foram utilizadas duas cultivares, a BRSMG Madrepérola, pertencente ao *pool* gênico Mesoamericano, grãos tipo Carioca, porte prostrado e hábito de crescimento indeterminado. E a cultivar BRSMG União, pertencente ao *pool* gênico Andino, grãos tipo Jalo, porte semi-ereto a prostrado e hábito de crescimento indeterminado.

3.4 Preparo do inóculo e inoculação no feijoeiro

Cada um dos 12 isolados foi repicado em seis placas de petri contendo meio batata dextrose ágar (BDA), totalizando 72 placas. Estas placas foram mantidas em BOD, por cerca de 20 dias à 25°C, até que o fungo colonizasse toda a placa. Posteriormente, as sementes das cultivares BRSMG Madrepérola e BRSMG União foram distribuídas nessas placas, contendo cada um dos isolados. Foram utilizadas quatro sementes por placa e três placas por isolado. Como testemunha, sementes das duas cultivares também foram mantidas em placas contendo somente meio BDA. Todas as placas foram novamente incubadas em BOD, à 25°C (FIGURA 1). Após a emissão da radícula, as cultivares foram semeadas em vasos contendo terra e substrato Tropstrato HA[®] na proporção 2:1. A terra foi previamente adubada com NPK 08-28-16 e superfosfato simples. Após 3 semanas da semeadura, foi realizada a adubação de cobertura com ureia. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação até o momento da colheita.

Figura 1 – Inoculação dos fungos endofíticos nas sementes do feijoeiro.



Fonte: Do Autor (2017)

3.5 Avaliação dos fungos endofíticos no feijoeiro

Os experimentos foram realizados em duas épocas: semeadura em maio (primeira época) e setembro de 2016 (segunda época). Cada experimento foi conduzido no delineamento de blocos casualizados (DBC), com três repetições, em esquema fatorial 13x2, sendo um fator, os doze fungos endofíticos mais a testemunha e o segundo fator, as duas cultivares de feijão. A parcela foi constituída de um vaso contendo três plantas.

Os seguintes caracteres foram avaliados em cada planta da parcela e posteriormente obtido a média da parcela:

- a) Altura de plantas (AP): foi medido o comprimento (cm) da base do caule até o ápice da planta na colheita;
- b) Comprimento da raiz (CR): foi medido o comprimento (cm) do hipocótilo até a extremidade da raiz principal da planta na colheita;
- c) Índice de comprimento foliar (IF): foi obtido pela fórmula $IF=C/L$, em que C é o comprimento (cm) e L a largura (cm) da folha central do trifólio do 5º nó, no florescimento;
- d) Número de dias para o florescimento (NDF): obtido entre o dia da semeadura até o dia do florescimento.
- e) Componentes de produção: foi determinado o número de vagens por plantas (X), o número de grãos por vagem (Y) e o peso de 100 grãos em gramas (Z).
- f) Produção de grãos por planta (W): foi obtida pela pesagem do total de grãos de cada planta (g).

3.6 Análise estatística

Os dados para cada caráter foram submetidos às análises de variância (ANAVA) individual e conjunta, com auxílio do software R. A ANAVA individual seguiu o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + b_j + c_i + f_{(k)} + cf_{(ik)} + e_{(ijk)}$$

Em que:

Y_{ijk} : observação da cultivar i, no bloco j, com o endofítico k;

μ : constante associada a todas observações;

b_j : efeito do bloco j, sendo que $j = 1,2,3$;

c_i : efeito da cultivar i, sendo que $i = 1,2$;

$f_{(k)}$: efeito do fungo endofítico k, sendo que $k = 1,2,\dots,12$;

$cf_{(ik)}$: efeito da interação cultivar i com o fungo endofítico k;

$e_{(ijk)}$: erro experimental associado à observação Y_{ijk} , $e_{ijk} \cap \text{NID}(0, \sigma^2)$;

A ANAVA conjunta seguiu o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijkm} = \mu + c_i + l_m + b_{j(m)} + f_k + lc_{mi} + lf_{mk} + cf_{ik} + lcf_{mik} + e_{ijkm}$$

Em que:

Y_{ijkm} : observação da cultivar i, no bloco j, no fungo endofítico k e na safra m;

μ : constante associada a todas observações;

c_i : efeito da cultivar i, sendo $i = 1,2$;

l_m : efeito da época m, sendo $m = 1,2$;

$b_{j(m)}$: efeito do bloco j dentro da época m, sendo $j = 1,2,3$;

f_k : efeito do fungo endofítico k, sendo $k = 1,2,\dots,12$;

lc_{mi} : efeito da interação época m com a cultivar i;

lf_{mk} : efeito da interação época m com o fungo endofítico k;

cf_{ik} : efeito da interação cultivar i com o fungo endofítico k;

lcf_{mik} : interação tripla, época m com a cultivar i e o fungo endofítico k;

e_{ijkm} : erro experimental associado à observação Y_{ijkm} , $e_{ijkm} \cap NID(O, \sigma^2)$;

Foi realizado o desdobramento da fonte de variação, fungos endofíticos em: entre endofíticos e testemunha versus endofíticos. Para avaliar o desempenho dos fungos endofíticos em relação às testemunhas foram realizados contrastes, entre cada fungo e a testemunha, para cada característica avaliada, para isso foi utilizado o teste Dunnett no software GENES. Pelo teste F, também foram realizados os 12 contrastes entre os endofíticos e a testemunha.

4 RESULTADOS

Os resumos das análises de variância individuais para cada época de avaliação estão apresentadas nas Tabela 1, Apêndice A. A precisão experimental avaliada pelo coeficiente de variação (CV%) variou de 1,35 (NDF) a 31,41% (W). Nas análises de variância individuais, para todas as características avaliadas a fonte de variação cultivar foi significativa, indicando que as cultivares diferem entre si. A fonte de variação endofíticos e o desdobramento endofíticos versus testemunha foram significativos para X e W na primeira época, e para Y na segunda época de avaliação. Para a AP, o IF e a Z o desdobramento endofíticos versus testemunha só foi significativo na segunda época de avaliação. Foi detectada a presença de interação entre cultivares e endofíticos apenas para X e Y, na segunda época de avaliação.

As médias de cada endofítico para W foram comparadas com a testemunha pelo Teste de Dunnett, sendo que os fungos *M. vitigenus* (C20), *Acremonium* sp. (C19), *Simplicillium* sp. (C12 e C18) apresentaram média superior à testemunha (TABELA 2, APÊNDICE A). A comparação da média de cada endofítico e a testemunha também foi realizada pela decomposição da fonte de variação endofíticos nos 12 contrastes, que foram testados pelo teste F (TABELAS 4, 5 e 6, APÊNDICE A), sendo observado o mesmo resultado encontrado utilizando-se o Teste de Dunnett. Para os componentes primários da produção, X e Y, as cultivares inoculadas com os fungos do gênero *Simplicillium* sp. (C12 e C18) apresentaram maior número de vagens por planta que a testemunha. Por outro lado, as cultivares inoculadas com os fungos *M. coffeanum* (COAD 1842), *M. vitigenus* (HZM10) e *M. coffeanum* (COAD 1899) apresentaram menor número de grãos por vagem em relação à testemunha (TABELAS 2 e 3, APÊNDICE A). As cultivares que apresentaram médias inferiores à média da testemunha para AP foram aquelas inoculadas com fungos *M. coffeanum* (COAD 1842), *M. yucatanensis* (HZM64) e *Acremonium* sp.(C19). Para o IF, as cultivares inoculadas com *M. coffeanum* (COAD 1842) apresentaram média inferior em relação à testemunha, na segunda época de avaliação. Já aquelas inoculadas com o fungo *M. vitigenus* (HZM10) apresentaram média de massa de 100 grãos superior à testemunha na mesma época de avaliação (TABELA 3, APÊNDICE A).

Foram realizadas as análises de variância conjunta para todas as características avaliadas (TABELAS 1,2,3 e 4). O coeficiente de variação (CV%) variou de 2.23 (NDF) a 31.36% (W). Foi observado o efeito de época para todas as características, exceto para AP e o IF. Na

decomposição da fonte de variação endofíticos, a média dos endofíticos foi de menor magnitude e diferiu significativamente da média da testemunha para o IF. Diferenças significativas entre as cultivares foram observadas para todas as características avaliadas, exceto para a AP. As demais fontes de variação não foram significativas para a maioria das características, exceto para W e seus componentes primários. No entanto, a interação cultivares por épocas foi significativa para a AP e NDF (TABELAS 1 e 2).

Tabela 1 – Resumo das análises de variância conjunta para as características altura de planta (AP) e comprimento de raiz (CR).

FV	GL	AP		CR	
		QM	Prob*	QM	Prob*
Época (E)	1	134,5	0,672	342,68	0,010
Cultivar (C)	1	1365,4	0,188	623,64	0,000
Endofítico (F)	12	905,0	0,315	33,73	0,776
Entre	11	878,78	0,346	36,27	0,717
F vs T ¹	1	1192,99	0,217	5,79	0,741
ExC	1	25229,1	0,000	33,91	0,415
ExF	12	972,0	0,261	74,32	0,148
CxF	12	671,3	0,579	46,00	0,539
ExCxF	12	446,3	0,861	92,43	0,053
Erro	100	774,2		50,34	
Média		98,28		37,30	
CV (%)		28,31		19,02	

*P-valor associado ao Teste F.

¹ Testemunha

Fonte: Do autor (2017).

Tabela 2 – Resumos das análises de variância conjunta para índice foliar (IF) e número de dias para o florescimento (NDF).

FV	GL	IF		NDF	
		QM	Prob*	QM	Prob*
Época (E)	1	0,028	0,198	4216,2	0,000
Cultivar (C)	1	0,338	0,000	34,16	0,045
Endofítico (F)	12	0,012	0,140	0,77	0,629
Entre	11	0,010	0,265	0,66	0,734
F vs T ¹	1	0,031	0,050	1,92	0,155
ExC	1	0,053	0,078	16,67	0,000
ExF	12	0,008	0,905	0,66	0,748
CxF	12	0,008	0,909	0,38	0,957
ExCxF	12	0,020	0,265	0,34	0,974
Erro	100	0,017		0,94	
Média		1,52		43,36	
CV (%)		5,95		2,23	

*P-valor associado ao Teste F.

¹ Testemunha

Fonte: Do autor (2017).

Para W as fontes de variação épocas, cultivares e endofíticos foram significativas. No desdobramento da fonte de variação endofíticos foi observada diferença significativa entre os endofíticos e no contraste endofíticos vs testemunha (TABELA 4). As cultivares inoculadas com os fungos endofíticos *M.vitigenus* (C20), *Acremonium* sp. (C19) e *Simplicillium* sp. (C18) apresentaram médias 56,4, 48,8 e 52,8% superiores, respectivamente, à testemunha (TABELA 5). Não foram observadas interações significativas entre épocas, cultivares e endofíticos. Para os componentes da produção (X, Y e Z) foram observadas diferenças significativas entre os endofíticos, para X. Neste caso, os resultados foram semelhantes aos observados para W (TABELAS 3 e 4). As cultivares inoculadas com os fungos *M. vitigenus* (C20) e *Simplicillium* sp. (C18) apresentaram médias 52,6 e 43,8% superiores, respectivamente, à testemunha, para X (TABELA 5). Para o IF, aquelas inoculadas com o fungo *M. coffeanum* (COAD 1842) apresentaram média inferior em relação à testemunha.

Tabela 3 – Resumos das análises de variância conjunta para número de vagens por planta (X) e número de grãos por vagem (Y).

FV	GL	X		Y	
		QM	Prob*	QM	Prob*
Época (E)	1	211,61	0,000	4,35	0,001
Cultivar (C)	1	376,56	0,000	49,62	0,000
Endofítico (F)	12	8,99	0,010	0,44	0,324
Entre	11	7,50	0,039	0,41	0,377
F vs T ¹	1	25,31	0,011	0,71	0,174
ExC	1	3,29	0,356	2,21	0,018
ExF	12	5,82	0,126	0,53	0,178
CxF	12	3,82	0,450	0,77	0,029
ExCxF	12	5,18	0,195	0,51	0,203
Erro	100	3,81		0,38	
Média		7,01		4,28	
CV (%)		27,84		14,38	

*P-valor associado ao Teste F.

¹ Testemunha

Fonte: Do autor (2017)

Tabela 4 – Resumos das análises de variância conjunta para massa de 100 grãos (Z) e produtividade de grão por planta (W).

FV	GL	Z		W	
		QM	Prob*	QM	Prob*
Época (E)	1	250,51	0,005	92,57	0,000
Cultivar (C)	1	2146,38	0,000	320,00	0,000
Endofítico (F)	12	20,42	0,776	21,45	0,001
Entre	11	22,21	0,707	19,79	0,003
F vs T ¹	1	0,63	0,887	39,67	0,021
ExC	1	602,7	0,000	16,68	0,131
ExF	12	32,93	0,386	8,58	0,297
CxF	12	28,07	0,530	9,56	0,213
ExCxF	12	23,58	0,679	10,95	0,128
Erro	100	30,52		7,18	
Média		30,04		8,60	
CV (%)		18,39		31,36	

*P-valor associado ao Teste F.

¹ Testemunha

Fonte: Do autor (2017)

Tabela 5 – Médias para índice foliar (IF), número de vagens por planta (X) e produtividade de grão por planta (W) dos endofíticos na análise conjunta comparadas com a testemunha pelo Teste Dunnett.

Fungos	IF		X		W	
	Média		Média		Média	
<i>M. vitigenus</i> (C20)	1,49	A	8,07	A	10,71	A
<i>M. coffeanum</i> (COAD 1842)	1,45	B	6,35	B	7,42	B
<i>M. yucatanensis</i> (HZM64)	1,55	A	5,93	B	6,91	B
<i>M. coffeanum</i> (COAD1900)	1,55	A	7,03	B	7,85	B
<i>M. vitigenus</i> (HZM39)	1,50	A	7,06	B	8,62	B
<i>M. vitigenus</i> (HZM10)	1,51	A	6,07	B	7,63	B
<i>M. coffeanum</i> (COAD 1899)	1,51	A	7,14	B	8,11	B
<i>Acremonium</i> sp. (C19)	1,52	A	7,60	B	10,20	A
<i>Simplicillium</i> sp. (C12)	1,53	A	7,75	B	9,74	B
<i>M. yucatanensis</i> (HZM60)	1,48	A	7,19	B	9,19	B
<i>M. vitigenus</i> (HZM41)	1,52	A	6,72	B	8,08	B
<i>Simplicillium</i> sp. (C18)	1,53	A	8,56	A	10,47	A
Testemunha	1,57	A	5,61	B	6,85	B

DMS	0,10	2,22	3,08
-----	------	------	------

*Médias com mesma letra, não diferem significativamente da testemunha

Fonte: Do autor (2017)

5 DISCUSSÃO

Fungos endofíticos podem promover o crescimento e o desenvolvimento das plantas em diferentes espécies (CHO et al., 2008; PARK et al., 2013). O uso destes fungos no controle biológico de doenças do feijoeiro tem sido investigado por Gomes et al. (2016) e Naves et al. (2016). Nestes trabalhos foram observadas visualmente, diferenças no crescimento das plantas. No presente trabalho, foi investigada a ação desses fungos endofíticos, de diferentes espécies isoladas do cafeeiro, na promoção do crescimento e na produtividade de plantas do feijoeiro.

As características avaliadas envolvidas no crescimento do feijoeiro, tais como, AP, CR e IF não apresentaram diferenças significativas entre as plantas inoculadas com os fungos endofíticos avaliados e a testemunha que não foi inoculada na primeira época de avaliação (TABELA 1, APÊNDICE A). Ao contrário, houve redução na média da AP e do IF em relação à testemunha na segunda época de avaliação (TABELA 3, APÊNDICE A). Resultado semelhante foi obtido por Latch, Hunt e Musgrave (1985) avaliando o efeito do fungo endofítico *Gliocladium-like* sp. no azevém. No entanto, Elena et al. (2011) e Suwannarach et al., (2015) observaram aumento no crescimento de raiz e da parte área em plantas de tomate na presença de fungos endofíticos (*Metarhizium anisopliae* e *Muscodor cinnamomi*). Deve ser mencionado que no presente trabalho, as estimativas do CV(%) das análises de variância individuais (27,4 e 29,22%) e na conjunta (28,31%) foram elevadas para a AP. Souza, Andrade e Muniz (2003) obtiveram estimativas de CV(%) de 13,84 a 19,4% para AP do feijoeiro em experimento em campo, no entanto, foram utilizadas quatro repetições. Portanto, a baixa precisão experimental devido ao número de repetições (três) e número de plantas por parcela (três) utilizadas pode ter contribuído para a ausência de diferenças entre as plantas inoculadas com os fungos endofíticos e a testemunha. Contudo, devido ao número de isolados endofíticos avaliados não foi possível utilizar um maior número de repetições em ambas as épocas de avaliação. Este é o primeiro relato do efeito de fungos endofíticos isolados do cafeeiro no crescimento do feijoeiro e portanto, a partir dos resultados obtidos, sugere-se que em trabalhos futuros um maior número de repetições deverá ser utilizado.

Na segunda época de avaliação as plantas inoculadas com os fungos *M. coffeanum* (COAD 1842), *M. yucatanensis* (HZM64) e *Acremonium* sp. (C19) apresentaram AP inferior à da testemunha (TABELA 5). A temperatura média nesta época foi de 22,6 °C e variou de 18 a 28 °C. Já na primeira época de avaliação a temperatura média foi de 18,6 °C e variou de 12,5 a

23 °C. Portanto, a ocorrência de temperaturas mais elevadas na segunda época pode ter contribuído para esta redução da AP em relação à testemunha pois, na primeira época não houve diferença entre as médias da AP dos endofíticos e a testemunha. Já para o IF as plantas inoculadas com o isolado *M. coffeanum* (COAD 1842) apresentaram médias inferiores à testemunha (TABELA 5 e TABELA 3, APÊNDICE A). Portanto, este isolado apresentou efeito negativo para o crescimento das plantas do feijoeiro considerando AP e IF. A influência da temperatura na colonização de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *Flaccumfaciens* - *Cff* (patógeno) ou do antagonista (*Bacillus subtilis* isolado ALB629) utilizado no controle biológico em plantas do feijoeiro tem sido investigada. Foi observado que na temperatura de 30 °C houve colonização do antagonista em raízes, caules e folhas. No entanto, à temperatura de 20 °C foi detectado apenas nas raízes (MARTINS et al., 2014).

Foi observada a presença de interação cultivares por endofíticos para X e Y na segunda época de avaliação, indicando que o comportamento dos endofíticos não foi coincidente nas cultivares BRSMG União e BRSMG Madrepérola. Nesta época de avaliação houve alta incidência de oídio, uma doença causada pelo fungo *Erysiphe poligoni*, e a cultivar BRSMG União que é de origem andina é altamente suscetível (ABREU et al., 2011). No entanto, no desdobramento da interação cultivares por endofíticos, não houve diferença entre as média de cada fungo endofítico e a testemunha para cada cultivar individualmente, a exceção para Y. Neste caso os isolados *M. yucatanensis* (HZM64) e *M. coffeanum* (COAD1899) inoculados na cultivar BRSMG União apresentaram médias inferiores à testemunha. Portanto, a presença de oídio não deve ter afetado essas características. Embora, visualmente as plantas da cultivar BRSMG União não inoculadas (testemunha) com os fungos endofíticos tenham apresentado sintomas mais severos que aquelas que foram inoculadas.

Nas análises de variância conjunta para a maioria das características não foi observada a presença de interação entre as principais fontes de variação (TABELAS 1, 2, 3 e 4). Foi constatado incremento superior a 48% na produção de grãos por planta (W) com a inoculação dos isolados *M. vitigenus* (C20), *Acremonium* sp. (C19) e *Simplicillium* sp. (C18) no feijoeiro em relação à testemunha. Analisando-se os componentes primários da produção, X, Y e Z verifica-se que apenas para X foi observado efeito positivo dos isolados *M. vitigenus* (C20) e *Simplicillium* sp. (C18). Portanto, o aumento na produtividade das plantas foi devido ao aumento no número de vagens por planta e não aos componentes Y e Z. As estimativas do CV% foram elevadas para X (24,88 a 28,70%) e W (30,13 a 31,41%), enquanto Martins (2016)

observou estimativas do CV% de 14,03 para X e 10,88 para W, que indica boa precisão experimental. Portanto, como já mencionado, a baixa precisão pode ter influenciado na não detecção de diferenças significativas para a maioria dos isolados endofíticos avaliados. Houve efeito de época para W e todos os componentes X, Y e Z, sendo que para X e W as médias foram de maior magnitude na primeira época. Já os componentes Y e Z apresentaram médias superiores na segunda época de avaliação (TABELAS 3 e 4).

Pelos resultados obtidos os isolados *M. vitigenus* (C20) e *Simplicillium* sp. (C18) e *Acremonium* sp. (C19) apresentaram-se promissores no crescimento do feijoeiro. Estes fungos foram isolados do cafeeiro e ainda são escassas as informações sobre estas espécies como endofíticos. Todos os isolados utilizados no presente trabalho têm sido avaliados no controle biológico de *Colletotrichum lindemuthianum*, *Pseudocercospora griseola* e *Sclerotinia sclerotiorum* que causam antracnose, mancha angular e mofo branco no feijoeiro, respectivamente. Considerando os três isolados endofíticos selecionados no presente trabalho, tem sido observada a ação inibitória dos mesmos para *C. lindemuthianum* em testes in vitro (dados não publicados). Houve inibição no crescimento de *P. griseola* na presença de *M. vitigenus* (C20) e *Simplicillium* sp. (C18) e para *S. sclerotiorum* apenas na presença de *Acremonium* sp. (C19). Já no ensaio in vivo esses fungos endofíticos quando inoculados não reduziram a severidade dessas doenças no feijoeiro (GOMES et al., 2016; NAVES et al., 2016).

A espécie *M. vitigenus* é produtora de naftaleno e altera o comportamento de insetos (DAISY et al., 2002) e também tem sido relatado o seu potencial no controle biológico de bactérias, leveduras e fungos (SIRI-UDOM; SUWANNARACH; LUMYONG, 2015). Espécies do gênero *Simplicillium* têm causado inibição no crescimento de *Fusarium verticillioides* em sementes de milho (MONTEIRO, 2016) e também em *Phakopsora pachyrhizi* em folhas de soja (WARD et al., 2012). Já o gênero *Acremonium* sp. (C19) como fungo endofítico produz compostos voláteis bioativos que apresentaram atividade antimicrobiana no crescimento de *Botrytis cinerea*, *Pestalotia longisetula* e inibição completa de *Cercospora coffeicola*, *Rhizoctonia solani*, *Phoma* sp. e *F. solani* (MONTEIRO, 2016). A autora identificou que entre os vários compostos orgânicos voláteis produzidos por este fungo endofítico estão o etanol, o 2 metil-1-butanol e o 3 metil-1-butanol. Estes compostos também são produzidos por espécies do gênero *Muscodor* (MONTEIRO, 2016; STROBEL, 2001; SUWANNARACH et al., 2010). Compostos orgânicos voláteis podem estimular o crescimento

das plantas, tais como, acetoina e 2,3 butanodiol produzidos por bactérias endofíticas (RYU et al., 2003; RYU et al., 2005).

A colonização diferencial de fungos endofíticos em diferentes órgãos da planta e em diferentes cultivares de feijoeiro tem sido observada (PARSA et al., 2016). Portanto, em trabalhos futuros seria interessante verificar a colonização *M. vitigenus* (C20) e *Simplicillium* sp. (C18) e quantificá-los em diferentes cultivares. No entanto, é necessário identificar marcadores moleculares que permitam verificar a presença desses fungos nos diferentes órgãos da planta do feijoeiro, como realizado por Parsa et al. (2016).

6 CONCLUSÃO

- Os fungos endofíticos *M. vitigenus* (C20), *Simplicillium* sp. (C18) e *Acremonium* sp. (C19) apresentam-se promissores no incremento da produtividade do feijoeiro, tendo sido observado um acréscimo de 48% na produtividade do feijoeiro na presença destes isolados.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. F. B et al. **BRSMG União: Cultivar de Feijão Comum de Grãos Tipo Jalo para o Estado de Minas Gerais**. 1. ed. Santo Antônio de Goiás-GO: Comunicado Técnico, 199. Embrapa Arroz e Feijão, Julho/2011.
- AMIN, N. Endophytic Fungi to Control of Cocoa Pod Borer (*Conopomorpha cramerella*) on Cocoa Plantation. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**. Makassar, v.7, n.6, p. 1496- 1501, 2016.
- ANTUNES et al. Índice comprimento/largura da folha no melhoramento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2. 2003, Porto Seguro. **Melhoramento da qualidade de vida: [anais]**. Porto Seguro: SBMP, 2003. 1 CD-ROM.
- ATUGALA, D.M; DESHAPPRIYA, N. Effect of endophytic fungi on plant growth and blast disease incidence of two traditional rice varieties. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, Kelaniya, v.43 n.2, p. 173-187, 2015.
- AZEVEDO, J.L. **Microorganismos endofíticos**. In: Ecologia Microbiana. Melo, I.S. and Azevedo, J.L. (eds.). Editora EMBRAPA, Jaguariuna, São Paulo, Brazil. pp. 117-137, 1998.
- AZEVEDO, J. L. et al. Endophytic microorganism: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **EJB Eletronic Journal of Biotechnology**, Chile, p.40-65. v. 3, n.1, 2000.
- BAYMAN, P. et al. Distribution and dispersal of Xylaria endophytes in two tree species in Puerto Rico. **Mycological Research**, United Kingdom. v.102, n. 8, p. 944–948, 1998.
- CARDOSO, P. G.; PEREIRA, O. L; MONTEIRO, M.C.P. In vitro biocontrol of phytopathogenic fungi by coffee endophytic fungi. **XIII Congreso Argentino de Microbiología - CAM 2013 II Congreso de Microbiología Agrícola y Ambiental - DIMAyA**, 2013, Buenos Aires, 2013.
- CHANDRA, S. Endophytic fungi: Novel sources of anticancer lead molecules. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Jharkhand, v. 95, n. 1, p. 47–59, 2012.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2015/2016: décimo segundo levantamento, setembro/2016**. Brasília, v.3, p. 86-99, 2016.
- DAI, C. C.; YU, B. Y.; LI, X. Screening of endophytic fungi that promote the growth of *Euphorbia pekinensis*. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 19, p. 3505–3510, 2008.
- DAISY, B. H. et al. Naphthalene, an insect repellent, is produced by *Muscodor vitigenus*, a novel endophytic fungus. **Microbiology**, Bozeman, v. 148, n. 11, p. 3737–3741, 2002.
- ELENA, G. J. et al. *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin Promotes Growth and

Has Endophytic Activity in Tomato Plants. **Advances in Biological Research**, Buenos Aires, v. 5, n. 1, p. 22–27, 2011.

EZRA, D.; HESS, W. M.; STROBEL, G. A. New endophytic isolates of *Muscodor albus*, a volatile-antibiotic-producing fungus. **Microbiology**, Bozeman, v. 150, n. 12, p. 4023–4031, 2004.

FAETH, S. H.; FAGAN, W. F. Fungal endophytes: common host plant symbionts but uncommon mutualists. **Integrative and comparative biology**, Arizona, v. 42, n. 2, p. 360–368, 2002.

FALEIRO, F. G. **Melhoramento e mapeamento genético do feijoeiro-comum: análise de características quantitativas, morfológicas, moleculares e de resistência a doenças**. 2000. 48 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de plantas)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, 2000.

FANCELLI, A. L. **Feijão: tópicos especiais de manejo**. Piracicaba:ESALQ/USP/LPV, 2009. 208 p.

FERNANDES, E. G. Fungos endofíticos em soja (*Glycine max*): diversidade, biocontrole de fitopatógenos e análise de metabólitos. 2015. 128 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG. 2015.

FRÓHLICH, J.; HYDE, K.; PETRINI, O. Endophytic fungi associated with palms. **Mycological Research**, Comano, Switzerland, v. 10, n.104, p. 1202–1212, outubro/2000.

GAZIS, R.; CHAVERRI, P. Diversity of fungal endophytes in leaves and stems of wild rubber trees (*Hevea brasiliensis*) in Peru. **Fungal Ecology**, United States, v. 3, n. 3, p. 240–254, 2010.

GOMES, L.B. W. et al. Avaliação da inibição in vitro de *Pseudocercospora griseola* pela atividade de fungos endofíticos. In: XVI Simpósio de Manejo de Doenças de Plantas, 2016. **Anais XVI Simpósio de Manejo de Doenças de Plantas**. NEFIT, 254 p. Lavras, 2016.

GONZAGA, L.L et al. Endophytic fungi from the genus *Colletotrichum* are abundant in the *Phaseolus vulgaris* and have high genetic diversity. **Journal of Applied Microbiology**. Viçosa-MG, v. 118, n.2, p.485-496, 2015.

HALLMANN, J. et al. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, p.895-914, 1997.

HAMAYUN, M. et al. Gibberellin production and plant growth promotion from pure cultures of *Cladosporium sp.* MH-6 isolated from cucumber (*Cucumis sativus L.*). **Mycologia**, Lawrence, v. 102, n. 5, p. 989–995, 2010.

HANADA, R. E. et al. Endophytic fungal diversity in *Theobroma cacao* (cacao) and *T. grandiflorum* (cupuaçu) trees and their potential for growth promotion and biocontrol of black-pod disease. **Fungal Biology**, Ilhéus, v. 114, n. 11-12, p. 901–910, 2010.

HARDOIM, P. R. et al. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 79, n. 3, p. 293–320, 2015.

HARMAN, G. E. et al. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43–56, 2004.

HONGSANAN, S. et al. Fungal biodiversity profiles 11-20. **Cryptogamie, Mycologie**, v.36, n. 3 p. 355-380, 2015.

KONG, Z. et al. A nodule endophytic plant growth-promoting *Pseudomonas* and its effects on growth, nodulation and metal uptake in *Medicago lupulina* under copper stress. **Ann Microbiol**, v. 67, p. 49-58, 2017.

KORPI, A.; JARNBERG, J.; PASANEN, A.-L. Microbial Volatile Organic Compounds. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 39, n. 2, p. 139–193, 2009.

LATCH, G. C. M.; HUNT, W. F.; MUSGRAVE, D. R. Endophytic fungi affect growth of perennial ryegrass. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 28, n. 1, p. 165–168, 1985.

LE DANG, Q. et al. Antimicrobial activities of novel mannosyl lipids isolated from the biocontrol fungus *Simplicillium lamellicola* BCP against phytopathogenic bacteria. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 15, p. 3363–70, 2014.

LEWIS, G. C. et al. Effect of infection by the endophytic fungus *Acremonium lolii* on growth and nitrogen uptake by perennial ryegrass (*Lolium perenne*) in flowing solution culture. **Annals of Applied Biology**, v. 129, n. 3, p. 451–460, 1996.

LIMA, J. G. **Geometria aplicada ao melhoramento genético do feijoeiro**. 2015. 59 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

LIU, F.; CAI, L. Morphological and Molecular Characterization of a Novel Species of *Simplicillium* from China. **Cryptogamie, Mycologie**, v. 33, n. 2, p. 137–144, 2012.

LONG, H. H.; SCHMIDT, D. D.; BALDWIN, I. T. Native bacterial endophytes promote host growth in a species-specific manner; phytohormone manipulations do not result in common growth responses. **PLoS ONE**, v. 3, n. 7, 2008.

MACÍAS-RUBALCAVA, M. L. et al. Allelochemical Effects of Volatile Compounds and Organic Extracts from *Muscodor yucatanensis*, a Tropical Endophytic Fungus from *Bursera simaruba*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, n. 10, p. 1122–1131, 2010.

MARTINS, F. A. D. **Sistemas de manejo e população de plantas na cultura do feijoeiro comum**. 2016. 158 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, 2016.

- MITCHELL, A. M. et al. Volatile antimicrobials from *Muscodora crispans*, a novel endophytic fungus. **Microbiology**, v. 156, n. 1, p. 270–277, 2010.
- MONTEIRO, M. C. **Fungos endofíticos de cafeeiro produtores de compostos orgânicos voláteis e enzimas extracelulares**. 2016. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016
- MORATH, S. U.; HUNG, R.; BENNETT, J. W. Fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnological potential. **Fungal Biology Reviews**, v. 26, n. 2-3, p. 73–83, 2012.
- NAVES, A. N. Avaliação da inibição in vitro de *Sclerotinia sclerotiorum* pela atividade de fungos endofíticos. In: XVI Simpósio de Manejo de Doenças de Plantas. **Anais XVI Simpósio de Manejo de Doenças de Plantas**. NEFIT, 254 p. Lavras, 2016.
- NETO, P. A. S. P.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Micro-organismos endofíticos: interação com plantas e potencial biotecnológico. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 29, p. 62-76, 2002.
- OLIVEIRA, R. L. E. **Avaliação do potencial biotecnológico de fungos endofíticos de *Piper hispidum***. 2010. 82 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia)- Universidade do Estado de Amazonas, Manaus, 2010.
- PAUL, D.; PARK, K. S. Identification of volatiles produced by *Cladosporium cladosporioides* CL-1, a fungal biocontrol agent that promotes plant growth. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 13, n. 10, p. 13969–13977, 2013.
- PARSA, S. et al. Fungal Endophytes in germinated seeds of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. **Fungal Biology**, v.120, p. 783-790, 2016.
- PETRINI, O. 1991. **Fungal Endophytes of Tree Leaves**. In Microbial Ecology of leaves (p. 179-197). Springer New York.
- PHAM, V.T.K. et al. The plant growth-promoting effect of the nitrogen-fixing endophyte *Pseudomonas stutzeri* A15. **Arch Microbiol**. 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007/s00203-016-1332-3>> Acesso em: 10 de janeiro de 2017.
- PIRES, L. P. M. **Seleção recorrente em feijão do tipo carioca para porte ereto**. 144 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.
- PORRAS-ALFARO, A.; BAYMAN, P. Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. **Annual review of phytopathology**, v. 49, p. 291–315, 2011.
- RIBEIRO, N.D; DOMINGUES, L.S; ZEMOLIN, A. E. M. Avaliação dos componentes da produtividade de grãos em feijão de grãos especiais. **Científica**. v. 42, n. 2, p. 178-186,

Jaboticabal, 2014.

ROY, S. et al. Novel xylanases from *Simplicillium obclavatum* MTCC 9604: comparative analysis of production, purification and characterization of enzyme from submerged and solid state fermentation. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 382, 2013.

RYU, C. M. et al. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. PNAS, v. 100, n.8, p. 4927–4932, 2003.

RYU, C.M. et al. Study of mechanisms for plant growth promotion elicited by rhizobacteria in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Soil** 268:285–292, 2005.

RUBIO, G.; LYNCH, J. P. Compensation among root classes in *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, The Hague, v. 290, n. 1/2, p. 307-321, Dec. 2007.

SAIKKONEN, K. et al. Evolution of endophyte-plant symbioses. **Trends in Plant Science**, v.9, n. 6, p. 275-280, 2004.

SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ, R. E. et al. Antifungal Volatile Organic Compounds from the Endophyte *Nodulisporium* sp. Strain GS4d2IIIa: a Qualitative Change in the Intraspecific and Interspecific Interactions with *Pythium aphanidermatum*. **Microbial Ecology**, 2015.

SANTOS, J. B. et al. Botânica. In: SOUZA, J. E; PAULA JR, T. J. de; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão: do plantio à colheita**. 1ª ed. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 38-66.

SARUHAN, I. Efficiency of some entomopathogenic fungi as biocontrol agent against *Aphis fabae scopoli* (Hemiptera: Aphididae). Pakistan Journal of Agricultural Sciences, v.52, n.2, p. 273-278, 2015.

SCHARDL, C. L. et al. Coevolution by common descent of fungal symbionts (*Epichloe* spp.) and grass host. **Molecular Biology and Evolution**, v. 14, n. 2, p. 133-143, 1997.

SCHULZ, B. et al. Fungal endophytes are involved in multiple balanced antagonisms. **Current Science**, v. 108, n. Special section: Endophytes, p. 1–7, 2015.

SHANKAR NAIK, B.; SHASHIKALA, J.; KRISHNAMURTHY, Y. L. Diversity of fungal endophytes in shrubby medicinal plants of Malnad region, Western Ghats, Southern India. **Fungal Ecology**, v. 1, n. 2-3, p. 89–93, 2008.

SILVA, H. T. da. **Caracterização botânica de espécies silvestres do gênero *Phaseolus* L. (Leguminosae)**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2003. 40 p.

SILVA, R. L. D. O. et al. Fungos endofíticos em *Annona* spp.: isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 3, p. 649–655, 2006.

SILVA, C. A. **Associação entre arquitetura da Planta e a produtividade do feijoeiro do mesmo “pool” gênico**. 2009. 59 p. Dissertação (Mestre em Genética e Melhoramento de

Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

SINGH, L. P.; GILL, S. S.; TUTEJA, N. Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. **Plant signaling & behavior**, v. 6, n. 2, p. 175–191, 2011.

SIRI-UDOM, S; SUWANNARACH, N; LUMYONG, S. Existence of *Muscodor vitigenus*, *M. equiseti* and *M. heveae* sp. nov. in leaves of the rubber tree (*Hevea brasiliensis* Müll.Arg.), and their biocontrol potential. **Ann Microbiol**, v. 66, p. 437-448, 2016.

STINSON, A. M. et al. Mycofumigation with *Muscodor albus* and *Muscodor roseus* for control of seedling diseases of sugar beet and verticillium wilt of eggplant. **Plant Disease**, v. 87, n.11, p.1349-1354, 2005.

STROBEL, G. A. et al. Volatile antimicrobial from a novel endophytic fungus. **Microbiology**, v. 147, p. 2943–2950, 2001.

STROBEL, G. et al. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. **Microbiology And Molecular Biology Reviews**, v. 67, n. 4, p. 491–502, 2003.

STROBEL, G. Harnessing endophytes for industrial microbiology. **Current Opinion in Microbiology**, v. 9, n. 3, p. 240–244, 2006.

STROBEL, G. *Muscodor* species- endophytes with biological promise. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 165–172, 2011.

SUWANNARACH, N. et al. *Muscodor cinnamomi*, a new endophytic species from *Cinnamomum bejolghota*. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 114, n. 1, p. 15-23, 2010.

SUWANNARACH, N. et al. Characterization and efficacy of *Muscodor cinnamomi* in promoting plant growth and controlling Rhizoctonia root rot in tomatoes. **Biological Control**, v. 90, p. 25–33, 2015.

TING, A. S. Y. et al. Endophytic microorganisms as potential growth promoters of banana. **BioControl**, v. 53, n. 3, p. 541–553, 2008.

VEGA, F. E. et al. *Penicillium* species endophytic in coffee plants and ochratoxin A production. **Mycologia**, v. 98, n. 1, p. 31–42, 2006.

VEGA, F. E. et al. Fungal endophyte diversity in coffee plants from Colombia, Hawai's Mexico and Puerto Rico. **Fungal ecology**, v.3, p. 122-138, 2010.

WAQAS, M. et al. Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes host-plant growth during stress. **Molecules**, v. 17, n. 9, p. 10754–10773, 2012.

WAQAS, M. et al. Endophytic fungi promote plant growth and mitigate the adverse effects of stem rot: an example of *Penicillium citrinum* and *Aspergillus terreus*. **Journal of Plant Interactions**, v.10, n.1, p. 280-287, 2015.

WARD, N. A. et al. Effects of *Simplicillium lanosoniveum* on *Phakopsora pachyrhizi*, the soybean rust pathogen, and its use as a biological control agent. **Phytopathology**, v.102, n.8, p. 749-760, 2012.

XIANG, L. et al. Biocontrol potential of endophytic fungi in medicinal plants from Wuhan Botanical Garden in China. **Biological Control**, v. 94, p. 47–55, 2016.

ZILIO, M. et al. Contribuição dos componentes de rendimento na produtividade de genótipos crioulos de feijão (*Phaseolus vulgaris*L.). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 429-438, 2011.

APÊNDICE

Tabela 1 – Resumo das análises de variância individuais referente à altura de planta (AP), comprimento de raiz (CR), índice foliar (IF), número de vagens por planta (X), número de grãos por vagem (Y), massa de 100 grãos (Z) e produtividade de grãos (W) para primeira e segunda épocas de avaliação.

		Primeira época							
FV	GL	AP	CR	IF	NDF	X	Y	Z	W
		QM	QM	QM	QM	QM	QM	QM	QM
Cultivares (C)	1	19166*	183,3*	0,153*	49,28*	154,70*	36,38*	3094,6*	85,26*
Endofíticos (F)	12	869,52	69,69	0,008	1,15	11,95*	3,97	10,71	22,25*
Entre	11	858,86	72,52	0,007	1,14	9,64	0,33	10,80	17,64*
F vs T ¹	1	986,81	38,48	0,008	1,23	37,31*	0,24	9,69	73,02*
CxF	12	392,74	83,15	0,011	0,50	4,73	0,42	7,50	9,98
Erro	50	739,11	47,98	0,011	1,61	5,50	0,48	9,45	8,56
Média		99,21	35,82	1,52	48,56	8,17	4,12	28,78	9,31
CV (%)		27,40	19,34	6,96	2,61	28,70	16,96	10,68	31,41
		Segunda época							
FV	GL	QM	QM	QM	QM	QM	QM	QM	QM
Cultivares (C)	1	7427,9*	474,2*	0,027*	1,55*	225,14*	15,45*	2511,9*	241,40*
Endofíticos (F)	12	1007,4	38,3	0,008	0,28	2,86	0,64*	15,53	6,06
Entre	11	513,4	33,4	0,006	0,23	3,02	0,44	12,87	6,31
F vs T ¹	1	6441,7*	92,3	0,002*	0,72	1,06	2,84*	44,78*	0,04
CxF	12	724,9	55,2	0,003	0,22	4,28*	0,86*	10,64	9,98
Erro	50	809,2	52,7	0,005	0,27	2,11	0,27	8,99	5,57
Média		97,35	38,78	1,50	38,17	5,84	4,45	31,31	7,83
CV (%)		29,22	18,72	4,66	1,35	24,88	11,69	9,57	30,13

*significativo a 5%, pelo teste F.

¹ Testemunha

Fonte: Do autor (2017).

Tabela 2 – Médias para o número de vagens por planta (X) e produtividade de grão por planta (W) dos endofíticos na primeira época de avaliação comparados com a testemunha pelo Teste Dunnett.

Fungos	(X)		(W)	
	Média		Média	
<i>M. vitigenus</i> (C20)	8,55	B	11,94	A
<i>M. coffeanum</i> (COAD 1842)	7,17	B	8,10	B
<i>M. yucatanensis</i> (HZM64)	6,33	B	6,83	B
<i>M. coffeanum</i> (COAD1900)	8,78	B	9,03	B
<i>M. vitigenus</i> (HZM39)	9,22	B	10,60	B
<i>M. vitigenus</i> (HZM10)	6,50	B	7,28	B
<i>M. coffeanum</i> (COAD 1899)	8,39	B	8,91	B
<i>Acremonium</i> sp. (C19)	8,97	B	11,84	A
<i>Simplicillium</i> sp. (C12)	9,94	A	11,08	A
<i>M. yucatanensis</i> (HZM60)	8,67	B	10,73	B
<i>M. vitigenus</i> (HZM41)	7,56	B	8,32	B
<i>Simplicillium</i> sp. (C18)	10,39	A	11,21	A
Testemunha	5,78	B	5,96	B
	DMS= 3,94		DMS = 5,01	

*Médias com mesma letra, não diferem significativamente da testemunha, à 5% de significância.

Fonte: Do autor (2017)

Tabela 3 – Médias para a altura de planta (AP), índice foliar (IF), número de grãos por vagem (Y) e massa de 100 grãos (Z) dos endofíticos na segunda época de avaliação comparadas com a testemunha pelo teste Dunnett.

Fungos	(AP)		(IF)		(Y)		(Z)	
	Média		Média		Média		Média	
<i>M. vitigenus</i> (C20)	100,99	A	1,50	A	4,24	A	30,91	B
<i>M. coffeanum</i> (COAD 1842)	80,80	B	1,44	B	4,13	B	30,09	B
<i>M. yucatanensis</i> (HZM64)	77,47	B	1,54	A	4,54	A	30,06	B
<i>M. coffeanum</i> (COAD1900)	103,94	A	1,53	A	4,25	A	30,85	B
<i>M. vitigenus</i> (HZM39)	92,66	A	1,52	A	4,64	A	29,62	B
<i>M. vitigenus</i> (HZM10)	99,31	A	1,52	A	4,18	B	34,26	A
<i>M. coffeanum</i> (COAD 1899)	96,22	A	1,50	A	3,83	B	31,58	B
<i>Acremonium</i> sp. (C19)	85,67	B	1,48	A	4,61	A	32,42	B
<i>Simplicillium</i> sp. (C12)	101,77	A	1,50	A	4,68	A	33,49	B
<i>M. yucatanensis</i> (HZM60)	101,22	A	1,47	A	4,31	A	32,32	B
<i>M. vitigenus</i> (HZM41)	91,33	A	1,54	A	4,66	A	30,38	B
<i>Simplicillium</i> sp (C18)	105,33	A	1,54	A	4,61	A	32,41	B
Testemunha	128,83	A	1,57	A	5,11	A	32,41	B
DMS	40,19		0,12		0,88		5,07	

*Médias com mesma letra, não diferem significativamente da testemunha, à 5% de significância.

Fonte: Do autor (2017)

Tabela 4 – Contrastes pelo Teste F dos endofíticos comparados com à testemunha para o número de vagens por planta (X) e produtividade de grão por planta (W) dos endofíticos na primeira época de avaliação.

Fungos	X		W	
	F*	Prob	F*	Prob
<i>M. vitigenus</i> (C20) vs T ¹	4,21	0,0455	9,9036	0,0028
<i>M. coffeanum</i> (COAD 1842) vs T	1,05	0,3097	1,6695	0,2023
<i>M. yucatanensis</i> (HZM64) vs T	0,17	0,6828	0,2740	0,6029
<i>M. coffeanum</i> (COAD1900) vs T	4,91	0,0313	3,4444	0,0694
<i>M. vitigenus</i> (HZM39) vs T	6,47	0,0141	7,8967	0,0071
<i>M. vitigenus</i> (HZM10) vs T	0,28	0,5965	0,6398	0,4276
<i>M. coffeanum</i> (COAD 1899) vs T	3,72	0,0595	3,1909	0,0801
<i>Acremonium</i> sp. (C19) vs T	5,56	0,0223	12,6774	0,0008
<i>Simplicillium</i> sp. (C12) vs T	9,46	0,0034	9,6137	0,0032
<i>M. yucatanensis</i> (HZM60) vs T	4,55	0,0378	8,3334	0,0057
<i>M. vitigenus</i> (HZM41) vs T	1,73	0,1948	2,0341	0,1600
<i>Simplicillium</i> sp. (C18) vs T	11,60	0,0013	10,1077	0,0025

¹Testemunha

*Alpha = 0,004, corrigido conforme correção para múltiplos testes de Bonferroni

Fonte: Do autor (2017)

Tabela 5 – Contrastes pelo Teste F dos endofíticos comparados com à testemunha para a altura de planta (AP), índice foliar (IF), número de grãos por vagem (Y) e massa de 100 grãos (Z) na segunda época de avaliação.

Fungos	AP		IF		Y		Z	
	F*	Prob	F*	Prob	F*	Prob	F*	Prob
(C20) vs T ¹	2,87	0,096	4,93	0,031	8,35	0,006	0,27	0,605
(COAD 1842) vs T	8,55	0,005	10,38	0,002	10,53	0,002	0,51	0,478
(HZM64) vs T	9,78	0,003	0,64	0,427	3,51	0,067	1,89	0,176
(COAD1900) vs T	2,30	0,136	1,00	0,322	8,06	0,007	1,22	0,274
(HZM39) vs T	4,85	0,032	1,37	0,247	2,39	0,129	0,23	0,636
(HZM10) vs T	3,23	0,078	1,65	0,204	9,47	0,003	8,16	0,006
(COAD 1899) vs T	3,94	0,053	3,26	0,077	18,06	0,000	2,20	0,145
(C19) vs T	6,91	0,011	5,53	0,023	2,78	0,102	3,65	0,062
(C12) vs T	2,71	0,105	2,57	0,115	2,04	0,160	6,06	0,017
(HZM60) vs T	2,83	0,099	5,82	0,020	7,11	0,010	3,47	0,069
(HZM41) vs T	5,21	0,027	0,77	0,384	2,23	0,141	0,75	0,389
(C18) vs T	2,05	0,159	0,49	0,488	2,78	0,102	6,88	0,012

¹Testemunha

*Alpha = 0,004, corrigido conforme correção para múltiplos testes de Bonferroni

Fonte: Do autor (2017)

Tabela 6 – Contrastes pelo Teste F dos endofíticos comparados com à testemunha para índice foliar (IF), número de vagens por planta (X) e produtividade de grão por planta (W) na análise conjunta.

Fungos	IF		X		W	
	F*	Prob	F*	Prob	F*	Prob
(C20) vs T ¹	5,10	0,026	9,55	0,003	3,41	0,068
(COAD 1842) vs T	9,07	0,003	0,86	0,355	0,33	0,567
(HZM64) vs T	0,15	0,699	0,16	0,686	0,01	0,918
(COAD1900) vs T	0,25	0,617	3,16	0,079	0,16	0,687
(HZM39) vs T	3,33	0,071	3,29	0,073	0,01	0,926
(HZM10) vs T	2,48	0,118	0,34	0,562	0,02	0,876
(COAD 1899) vs T	2,93	0,090	3,67	0,058	0,29	0,590
(C19) vs T	2,00	0,160	6,21	0,014	7,14	0,009
(C12) vs T	1,01	0,318	7,20	0,009	3,16	0,079
(HZM60) vs T	6,42	0,013	3,94	0,050	0,12	0,729
(HZM41) vs T	1,81	0,181	1,94	0,167	0,46	0,499
(C18) vs T	0,88	0,352	13,73	0,000	2,47	0,119

¹Testemunha

*Alpha = 0,004, corrigido conforme correção para múltiplos testes de Bonferroni.

Fonte: Do autor (2017)