

Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp.

Potential phosphate solubilization and AIA production of *Trichoderma* spp.

Ariadila Gonçalves de Oliveira¹, Aloisio Freitas Chagas Junior^{2*}, Gil Rodrigues dos Santos³, Luciane Oliveira Miller⁴,
Lillian França Borges Chagas⁵

Resumo: O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de produção de ácido indol acético (AIA) e a capacidade de solubilização de fosfato, *in vitro*, por isolados de *Trichoderma* spp. A partir de colônias de *Trichoderma* crescidas em meio BDA (batata, dextrose e Agar), foram retirados discos de aproximadamente 8,0 mm de diâmetro, contendo micélio e esporos e repicados para Erlenmeyer (250 mL) contendo meios BD (batata e dextrose) e FAN (glicose e extrato de levedura) na ausência e presença de L-triptofano, como precursor para biosíntese de AIA. Para a avaliação da capacidade de solubilização de fosfato, discos de aproximadamente 8,0 mm de diâmetro com micélio e esporos foram repicados para Erlenmeyer (250 mL), contendo meio NBRIP (modificado). Após análise colorimétrica, determinaram-se os teores de AIA e fósforo solúvel. Quanto à solubilização de fosfato, todos os isolados testados foram capazes de solubilizar fosfato em meio NBRIP, com a maior concentração para o isolado Tr-Dina (6,20 a 8,44 µg mL⁻¹). Para AIA, todos os isolados foram capazes de produzir AIA nos dois meios de cultura avaliados, suplementado ou não com L-triptofano, com os valores significativamente maiores com a utilização de L-triptofano.

Palavras-chave: l-triptofano, ácido indol acético, fosfato de cálcio.

Abstract: This study aimed to evaluate the potential for production of indole acetic acid (IAA) and phosphate solubilization capacity, *in vitro*, by isolates of *Trichoderma* spp. From *Trichoderma* colonies grown on PDA (potato dextrose agar), disks were obtained approximately 8.0 mm in diameter, containing mycelium and spores were transferred to Erlenmeyer flask (250 ml) containing PD means (potato dextrose) and Fan (glucose and yeast extract) in the absence and presence of L-tryptophan as a precursor for biosynthesis of IAA. To evaluate the ability to solubilize phosphate, disks of approximately 8.0 mm in diameter with mycelium and spores, were transferred to Erlenmeyer flask (250 mL) containing NBRIP medium (modified). After colorimetric analysis, we determined the levels of IAA and soluble phosphorus. The phosphate solubilization, all strains tested were able to solubilize phosphate NBRIP means, with the highest concentration to isolate Tr-Dina (6.20 to 8.44 mg mL⁻¹). For IAA, all isolates were capable of producing IAA in the two culture media evaluated and supplemented or not with L-tryptophan, with significantly higher with the use of L-tryptophan.

Keywords: l-tryptophan, indole acetic acid, calcium phosphate.

INTRODUÇÃO

Fungos do gênero *Trichoderma* spp. estão entre os micro-organismos mais comumente estudados como agentes de controle biológico de doenças em plantas e apresentam também atividade como promotores de crescimento vegetal (GRAVEL et al., 2007; SANTOS et al., 2010; MACHADO et al., 2011).

Os mecanismos de promoção de crescimento vegetal por micro-organismos do solo podem ser diretos e indiretos. Os diretos podem ser a produção de hormônios, ou outra substância análoga a estes, que influenciam no crescimento ou desenvolvimento da planta (MACHADO et al., 2011), ou ainda suprindo suas necessidades

nutricionais pela solubilização de fosfatos (GRAVEL et al., 2007). Já os benefícios indiretos podem ser pela ação de micro-organismos por meio da supressão de patógenos (HARMAN et al., 2004; SILVA et al., 2011; GAVA & MENEZES, 2012).

Quanto à produção do hormônio, a síntese de auxinas, particularmente o ácido indol-acético (AIA) promove o crescimento das raízes e a proliferação de pelos radiculares, o que pode melhorar a absorção de nutrientes e água do solo e, conseqüentemente, melhorar o crescimento da planta (CABALLERO-MELLADO et al., 2006). Vários estudos têm reportado que os micro-organismos estão ativamente envolvidos na síntese de

*autor para correspondência

Recebido para publicação em 29/08/2012; aprovado em 01/11/2012

¹ Universidade Federal do Tocantins. E-mail: ariadyla@hotmail.com

² Universidade Federal do Tocantins. E-mail: chagasjr@uft.edu.br*

³ Universidade Federal do Tocantins. E-mail: gilrsan@uft.edu.br

⁴ JCO Fertilizantes e Bioprodutos. E-mail: lucianeom@jcofertilizantes.com.br

⁵ Universidade Federal do Tocantins. E-mail: lillianfb@uft.edu.br

auxinas, tanto em meio de cultura quanto no solo (SOUCHIE et al., 2007; CARVALHO FILHO, 2008).

O aminoácido L-triptofano tem sido usado como precursor fisiológico para a biosíntese de auxinas em plantas e micro-organismos (KHALID et al., 2004). Os exsudados radiculares são fontes naturais de L-triptofano (LUM & HIRSCH, 2003) para a microbiota do solo, contribuindo para a síntese microbiana de AIA na rizosfera.

A produção de AIA por fungos tem sido reportada, evidenciando a capacidade de fungos em sintetizar AIA na rizosfera de plantas, podendo proporcionar o desenvolvimento radicular, como observado por Bjorkman (2004), Gravel et al. (2007), Souchie et al. (2007) e Carvalho Filho (2008), em várias culturas.

Quanto à capacidade de solubilização de fosfatos, diversos micro-organismos do solo, como os fungos, solubilizam diferentes formas de fosfatos inorgânicos. Os fungos foram relatados como solubilizadores de fosfatos em diversos trabalhos (SOUCHIE et al., 2005; VASSILEV et al., 2006; BARROSO & NAHAS, 2008; KAPRI & TEWARI, 2010).

Kapri & Tewari (2010) destacaram o potencial de solubilização de fosfato por isolados de *Trichoderma* sp. em meio de cultura, indicado pelas concentrações de fosfato solúvel ($\mu\text{g mL}^{-1}$), e o aumento significativo nos parâmetros de crescimento de grão de bico (*Cicer arietinum*) em ensaios de casa de vegetação, da mesma forma para culturas como *Trifolium repens* (trevo) como reportado por Vassilev et al. (2006).

A utilização de micro-organismos que possuem a capacidade de realizar este tipo de solubilização tem sido empregada como forma de substituir ou reduzir o uso de fertilizantes fosfáticos solúveis, pois dessa forma haverá melhor aproveitamento dos fosfatos naturais (SILVA FILHO et al., 2002). Portanto, uma maior compreensão da eficiência e capacidade de *Trichoderma* em solubilizar fosfato e sintetizar AIA, além do potencial no biocontrole de doenças, poderá favorecer a seleção de estirpes potencialmente úteis para disponibilizar o fósforo agregado a fontes de baixa solubilidade para o uso na agricultura, principalmente nos solos do cerrado.

Assim, o estudo teve como objetivo avaliar o potencial de solubilização de fosfato e a capacidade de sintetizar AIA, ambos *in vitro*, usando isolados de *Trichoderma* spp. oriundos do produto Trichoplus JCO fertilizantes e bioprodutos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos de janeiro a março de 2012, no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Tocantins – Campus de Gurupi. Os isolados de *Trichoderma* avaliados neste estudo foram obtidos junto a JCO Fertilizantes e Bioprodutos. Estes isolados fazem parte do mix de fungos que formam o produto Trichoplus (Tabela 1), e foram identificados conforme Afenas & Mafia (2007) e Martins et al. (2008).

Tabela 1. Isolados de *Trichoderma* obtidos do produto Trichoplus JCO

Isolados	Espécie
Tr-SMa	<i>Trichoderma</i> sp.
Tr-SMb	<i>Trichoderma</i> sp.
Tr-Euc	<i>Trichoderma harzianum</i> (<i>Hypocrea lixii</i>)
Tr-Gok	<i>Trichoderma asperellum</i>
Tr-Dina	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>
Tr-har	<i>Trichoderma harzianum</i>

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

A estimativa quantitativa de solubilização de fosfato foi realizada em triplicata em delineamento inteiramente

ao acaso. A incubação foi realizada a 28 ± 1 °C em um agitador a 150 rpm durante oito dias. Foram feitas avaliações aos dois, quatro, seis e oito dias após a repicagem.

Para a determinação da concentração de fósforo (P) solúvel utilizou-se o método colorimétrico de Murphy & Riley (1962), subtraindo-se o P solúvel contido nos tratamentos pelo contido na amostra controle (meio de cultura com fosfato e sem inóculo).

Para as avaliações foram utilizadas uma parte do reagente, 0,5 ml da amostra filtrada mais 5mL de água destilada para cada amostra. Após 20 minutos de reação o P solúvel foi quantificado em espectrofotômetro no comprimento de onda de 725 nm de absorbância. A curva padrão para quantificação de P foi feita a partir do fosfato

de potássio monobásico (KH_2PO_4) e as concentrações calculadas em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Para a produção de AIA *in vitro* por *Trichoderma* spp. inicialmente os isolados foram previamente cultivados em placa de Petri em meio BDA (batata, dextrose e Agar), por sete dias a 28 °C. Para a avaliação da produção de AIA foram utilizados dois meios de cultura para fungos, o meio BDA e o meio FAN (glicose, 20 g; extrato de levedura, 3 g; K_2HPO_4 , 0,6 g; MgSO_4 , 0,3 g; pH 5,9 – 6,1) (FAN, 2002).

Os isolados foram transferidos, através de discos de aproximadamente 8,0 mm de diâmetros contendo o micélio e esporos do fungo, para frascos de Erlenmeyer (250 mL) contendo 50 mL com os meios BD e FAN na ausência (testemunha) e presença de L-triptofano. A concentração de L-triptofano utilizada foi de 100 mg L^{-1} , sendo utilizadas três repetições por isolado para cada tratamento em cada meio utilizado, em delineamento inteiramente ao acaso.

Após dois, quatro, seis e oito dias de crescimento sob um agitador rotatório (150 rpm) a 26 ± 2 °C, a massa fúngica foi separada por centrifugação a 12.000 rpm por 15 minutos. Para a análise colorimétrica de AIA (GORDON & WEBER, 1951) foram utilizados uma parte

do reagente de Salkowski [FeCl_3 0,5 mol L^{-1} + HClO_4 (35%)] e duas partes do sobrenadante obtido de cada isolado.

Após a comprovação qualitativa da presença de AIA (coloração rosa após 25 minutos de reação à temperatura de 28 °C no escuro), o fitormônio foi quantificado em espectrofotômetro em 530 nm. As concentrações, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, foram calculadas a partir de uma curva padrão com concentrações conhecidas da forma sintética do hormônio (0 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$), cujas leituras foram a base para calcular a concentração de AIA nas amostras.

Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico ASSISTAT versão 7.6 beta (SILVA, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os isolados mostraram crescimento micelial em meio NBRIP modificado. A concentração de fosfato solubilizado gradualmente aumentou, na maioria dos isolados, de dois a seis dias, e diminuiu em seguida, no oitavo dias de crescimento (Tabela 2).

Tabela 2. Solubilização de fosfato de cálcio (10 g L^{-1}) em meio NBRIP (modificado) por isolados de *Trichoderma* sp, em diferente intervalo de tempo (dias)¹

Isolados	Concentração de fosfato solubilizado ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			
	2 d	4 d	6 d	8 d
Tr-SMa	5,72 a	7,45 a	6,75 b	3,45 b
Tr-SMb	5,22 a	6,59 a	6,57 b	3,81 b
Tr-Euc	1,49 c	2,74 c	8,31 a	4,55 b
Tr-har	2,50 c	3,33 c	2,86 c	2,47 c
Tr-Gok	4,34 b	5,98 b	3,22 c	4,60 b
Tr-Dina	6,60 a	8,44 a	8,35 a	6,20 a
Testemunha	0,25 d	0,29 d	0,29 d	0,30 d
C.V.(%) ²	11,3	13,5	11,2	14,2

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5%.² Coeficiente de Variação

Na primeira avaliação, aos dois dias de crescimento, a concentração de AIA variou de 1,49 a 6,6 $\mu\text{g mL}^{-1}$ entre os tratamentos com inoculação, sendo significativamente superiores a testemunha (Tabela 2).

A concentração de fosfato variou de 2,74 a 8,44 $\mu\text{g mL}^{-1}$ nos filtrados de cultura dos isolados de *Trichoderma* na segunda avaliação (quatro dias), com os isolados Tr-SMa (7,45 $\mu\text{g mL}^{-1}$), TR-SMb (6,59 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e Tr-Dina (8,44 $\mu\text{g mL}^{-1}$) apresentando concentrações significativamente superiores ($p < 0,05$). Aos seis dias de crescimento, as concentrações encontradas para os isolados Tr-Euc e Tr-Dina (8,31 e 8,35 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente), foram superiores ($p < 0,05$) aos demais isolados.

Na avaliação aos oito dias, o isolados Tr-Dina apresentou concentração de fosfato de 6,20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, superior ($p < 0,05$) aos demais isolados. A concentração de fosfato significativamente mais baixa foi registrado para o filtrado de cultura do isolado Tr-har, que variou de 2,47 a 3,33 $\mu\text{g mL}^{-1}$ nas quatro épocas de avaliação.

A diminuição, em geral, da concentração de fosfato solubilizado, na última avaliação, aos oito dias após a repicagem (Tabela 2), pode ter sido em função da utilização pelos fungos para os processos celulares. O aumento inicial na concentração de fosfato, dos dois aos seis dias, seguido por uma diminuição gradual no filtrado de cultura, aos oito dias de cultivo, também foi reportado em outros trabalhos (NAUTIYAL, 1999; KAPRI & TEWARI, 2010). Esta diminuição da concentração de

fosfato aos oito dias pode ser correlacionada com a sua fixação no micélio de *Trichoderma*, e segundo Kapri & Tewari (2010), este fosfato poderá ser libertado de uma forma facilmente disponível em estreita proximidade com as raízes após a lise de micélio com a idade.

Todos os isolados de *Trichoderma* utilizados no presente experimento apresentaram potencial de solubilização de fosfato variável com os isolados Tr-SMA, Tr-SMb, Tr-Euc e Tr-Dina sendo os melhores na solubilização de fosfato (Tabela 2). Resultados semelhantes foram reportados por Kapri & Tewari (2010) que destacou o potencial de solubilização de fosfato por *Trichoderma* sp. isolados da rizosfera de diferentes árvores, onde todos os isolados testados foram capazes de solubilizar fosfato tricálcio em meio NBRIP. A capacidade de solubilização de fosfatos por fungos em diferentes meios sólidos e líquido, também foram reportados por outros autores (SILVA FILHO et al., 2002; ALAM et al., 2002; SOUCHIE et al., 2005).

Os isolados testados apresentaram redução significativa de pH ao longo do período de avaliação, no meio líquido com fosfato de cálcio, em relação a testemunha (Tabela 3). A capacidade de solubilização de fosfato por micro-organismos pode estar relacionada à acidificação do meio, devido a diminuição do pH em função da liberação de ácidos orgânicos ao meio. Redução de pH em meio com cultivo por diversas espécies de fungo também foi observado por Alam et al. (2002), Souchie et al. (2005) e Vassilev et al. (2006). Porém, Kapri & Tewari (2010) concluíram que, contrariamente ao que o pH decrescente para culturas individuais até 48 horas e depois a aquisição de constância, as concentrações de fosfato solúveis continua a aumentar após 48 h. Isto sugere claramente que a queda de pH não é o fator único para a solubilização de fosfato.

Tabela 3. pH do meio líquido, após incubação de isolados de *Trichoderma* solubilizadores de fosfato, em presença de fosfato de cálcio¹

Isolados	pH do meio			
	2 d	4 d	6 d	8 d
Tr-SMA	5,9 a	5,4 b	5,4 b	4,9 b
Tr-SMb	6,0 a	5,4 b	5,3 b	5,0 b
Tr-Euc	5,7 a	5,2 b	5,0 b	4,7 c
Tr-har	5,9 a	5,3 b	5,1 b	4,7 c
Tr-Gok	5,9 a	5,5 b	5,4 b	4,8 b
Tr-Dina	5,9 a	5,3 b	4,9 b	4,6 c
Testemunha	6,1 a	6,2 a	6,2 a	6,1 a

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5%

Quanto à capacidade de sintetizar ácido indol acético (AIA), todos os isolados produziram AIA nos meios de cultura BD e FAN suplementado ou não com L-triptofano (Tabela 4). Na ausência do indutor, a síntese de AIA variou significativamente de 1,4 a 3,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com os isolados Tr-SMA e Tr-har apresentando as menores e maiores concentrações, respectivamente, para as avaliações aos dois dias de crescimento no meio BD e os isolados Tr-Euc (1,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$) com a menor média e Tr-SMb e Tr-Gok (2,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$) com as maiores médias para o meio FAN. No quarto dia de avaliação não houve diferença significativa entre os tratamentos com os

isolados, somente em relação à testemunha, para o meio BD. Para o meio FAN as maiores concentrações foram para os isolados Tr-SMb (2,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e Tr-Gok (2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$). No sexto dia de crescimento, os isolados Tr-SMA (2,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$), Tr-SMb (2,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$), Tr-Euc (1,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e Tr-har (1,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$) apresentaram as maiores médias ($p < 0,05$) para o meio BD e o isolado Tr-SMb (2,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$) para o meio FAN.

No oitavo dia de crescimento microbiano houve produção de AIA semelhante aos valores encontrados para a avaliação aos seis dias nos dois meios utilizados (Tabela 4).

Tabela 4. Produção de AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$) por *Trichoderma* em meios BD e FAN na ausência (S Trip.) e presença (C Trip.) de L-triptofano¹

Tratamentos	AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$) - MEIO BD							
	2 d		4 d		6 d		8d	
	S Trip.	C Trip.	S Trip.	C Trip.	S Trip.	C Trip.	S Trip.	C Trip.
Tr-SMa	1,4 aB	11,1 aA	1,7 aB	11,7 bA	2,0 aB	14,3 bA	2,0 aB	13,5 bA
Tr-SMb	1,8 aB	13,3 aA	1,9 aB	14,8 aA	2,0 aB	18,7 aA	1,9 aB	17,7 aA
Tr-Euc	2,0 aB	5,6 bA	1,7 aB	5,8 cA	1,8 aB	8,3 cA	1,8 aB	7,9 cA
Tr-har	3,0 aB	9,4 aA	1,9 aB	7,4 cA	1,8 aB	6,2 cA	1,9 aB	5,9 cA
Tr-Gok	1,6 aB	4,7 bA	1,6 aB	5,0 cA	1,3 bB	6,4 cA	1,3 bB	6,1 cA
Tr-Dina	1,4 aA	6,5 bA	1,6 aB	6,6 cA	1,8 aA	6,9 cA	1,8 aB	6,7 cA
Testemunha	0,5 bA	0,7 cA	0,4 bA	0,6 dA	0,2 cA	0,4 dA	0,2 cA	0,4 dA
C.V.(%) ²	11,4	12,1	9,8	13,5	9,7	12,5	11,7	10,7

AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$) - MEIO FAN								
Tr-SMa	1,7 bB	14,3 bA	1,5 bB	15,2 aA	1,4 cB	13,3 bA	1,2 cB	12,7 bA
Tr-SMb	2,3 aB	13,2 bA	2,3 aB	15,5 aA	2,8 aB	19,9 aA	2,5 aB	18,7 aA
Tr-Euc	1,4 bB	18,9 aA	1,5 bB	14,3 aA	1,7 bB	14,4 bA	1,7 bB	14,0 bA
Tr-har	1,5 bB	13,3 bA	1,5 bB	9,0 bA	1,6 bB	6,9 dA	1,6 bB	6,5 dA
Tr-Gok	2,3 aB	11,6 cA	2,5 aB	9,7 bA	2,3 bB	9,1 cA	2,2 aB	8,2 cA
Tr-Dina	1,4 bA	13,4 bA	1,6 bA	10,1 bA	1,6 bA	10,2 cA	1,4 bB	9,7 cA
Testemunha	0,4 cA	0,4 dA	0,4 cA	0,8 cA	0,6 dA	0,7 eA	0,5 dA	0,7 eA
C.V. (%)	8,9	13,2	9,1	11,2	9,9	11,3	10,2	11,5

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5%. ² Coeficiente de Variação

Com o uso do L-triptofano, aos dois dias de avaliação as maiores médias foram observadas para os tratamentos com os isolados Tr-SMa ($11,1 \mu\text{g mL}^{-1}$), Tr-SMb ($13,3 \mu\text{g mL}^{-1}$) e Tr-har ($9,4 \mu\text{g mL}^{-1}$) para o meio BD e o isolado Tr-Euc ($18,9 \mu\text{g mL}^{-1}$) para o meio FAN (Tabela 4). No quarto dia de avaliação, destaque para o isolado Tr-SMb ($14,8 \mu\text{g mL}^{-1}$) para o meio BD e os isolados Tr-SMa ($15,2 \mu\text{g mL}^{-1}$), Tr-SMb ($15,5 \mu\text{g mL}^{-1}$) e Tr-Euc ($14,3 \mu\text{g mL}^{-1}$) para o meio FAN, superiores ($p < 0,05$) aos demais tratamentos. Já no sexto dia de avaliação, o isolado Tr-

SMb apresentou as maiores médias ($p < 0,05$) para os meios BD ($18,7 \mu\text{g mL}^{-1}$) e FAN ($19,9 \mu\text{g mL}^{-1}$). Na avaliação aos oito dias de crescimento, destaque novamente para o isolado Tr-SMb nos dois meios utilizados.

Na comparação dos tratamentos com e sem L-triptofano, houve diferença significativa nas quatro épocas de avaliação e nos dois meios utilizados, evidenciando o efeito positivo da utilização do L-triptofano como indutor para síntese de AIA (Figura 1).

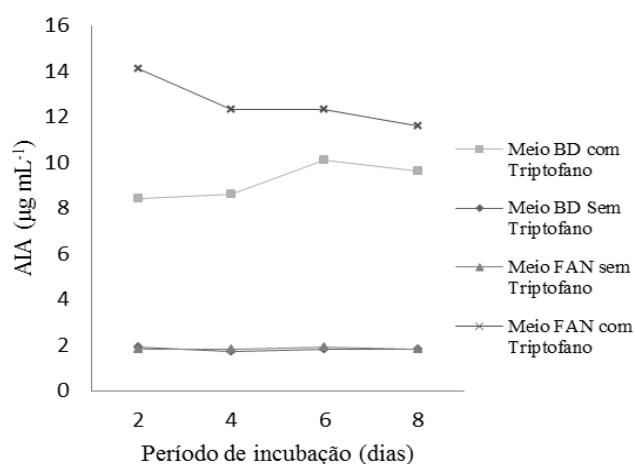


Figura 1. Média da produção de AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$) pelos isolados de *Trichoderma* sp. nos meios de cultura BD e FAN, na ausência e presença de L-triptofano

Carvalho Filho (2008) concluiu que alguns isolados de *Trichoderma* revelaram produção do fitohormônio AIA, em testes de filtrados de colônias com o reagente de Salkowski. Gravel et al. (2007), também verificaram a produção de AIA por um isolado de *T. atroviride*, utilizando diferentes meios de cultura contendo os precursores triptofano, triptamina e triptofol. Estes autores verificaram a capacidade de *Pseudomonas sputida* e *T. atroviride* em promover o crescimento reprodutivo de plantas de tomate sob condições típicas de crescimento hidropônico. Atribuíram esse crescimento ao resultado dos numerosos modos de ação exibidos pelos organismos testados, incluindo a regulação da concentração de ácido indol acético na rizosfera. Estes autores verificaram a capacidade destes microrganismos em produzir AIA *in vitro* a partir de diferentes precursores, inclusive o L-triptofano, e concluiu que na dose de 0,75 mM de L-triptofano, houve aumento da produção de AIA, o peso fresco e comprimento do caule e raízes.

A produção de AIA pelos isolados de *Trichoderma* avaliados sugere o uso potencial desses fungos como promotores do crescimento radicular de espécies vegetais de importância agrícola, conforme documentado por Bjorkman (2004), Resende et al. (2004), Gravel et al. (2007) e Carvalho Filho (2008).

Estes resultados mostram o potencial de *Trichoderma* como possíveis promotores do crescimento vegetal, tendo em vista a capacidade de solubilização de fosfato e síntese de AIA, porém é necessário testes de inoculação de *Trichoderma* em plantas para avaliação do efeito da inoculação na promoção do crescimento vegetal, assim como, no controle biológico.

CONCLUSÕES

1. Todos os isolados de *Trichoderma* estudados foram capazes de solubilizar fosfato de Cálcio em meio de cultura, onde o melhor resultado foi obtido pelo isolado Tr-Dina.

2. A maioria dos isolados usados nesse trabalho foi capaz de produzir AIA tanto na presença quanto na ausência do precursor L-triptofano nos dois meios de cultura BD e FAN, porém o uso do precursor L-triptofano apresentou efeito positivo como indutor para a síntese de AIA.

O isolado que apresentou melhor desempenho quanto a produção de AIA foi o Tr-SMa.

REFERÊNCIAS

ALAM, S.; KHALIL, S.; AYUB, N.; RASHID, M. *In vitro* solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) from *Maize* rhizosphere. **International Journal of Agriculture & Biology**, Faisalabad, v. 4, n. 4, p. 454-458, 2002.

ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. 1 ed. Viçosa: UFG, 2007. 382p

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

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

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

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

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

GAVA, C.A.T.; MENEZES, M.E.L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 4, p. 633-640, 2012.

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

GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R.J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology & Biochemistry**, Amsterdam, v. 39, n. 8, p. 1968-1977, 2007.

HARMAN, G.E., HOWELL, C.R., VITERBO, A., CHET, I., LORITO, M. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Review Microbiology**, London, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

KAPRI, A.; TEWARI, L. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 41, n. 3, p. 787-795, 2010.

KHALID, A.; ARSHA, M.; ZAHIR, Z.A. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. **Journal of Applied Microbiology**, Malden, v. 96, n. 3, p. 473-480, 2004.

- LUM, M.R.; HIRSCH, A.M. Rots and their symbiotic microbes: Strategies to obtain nitrogen and phosphorus in a nutrient limiting environment. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 21, n. 4, p. 368-382, 2003.
- MACHADO, R.G.; SÁ, E.L.S.; DAMASCENO, R.G.; HAHN, L.; ALMEIDA, D.; MORAES, T.; CAMARGO, F.A.O.; REARTES, D.S. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L. e *Avena strigosa* Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 111-126, 2011.
- MARTINS, A.; BRAÚNA, L.M.; MARTINS, I.; MELLO, S.C.M. **Técnica modificada de microcultura de fungos para visualização microscópica**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnológicos, 2008. 4p. (Comunicado Técnico, 176).
- MURPHY, J.; RILEY, J.P. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. **Analytical Chemistry Acta**, Amsterdam, v. 27, p. 31-36, 1962.
- NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphorus solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, Malden, v. 170, n. 1, p. 265-270, 1999.
- RESENDE, M.L. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 4, p. 793-798, 2004.
- SANTOS, H.A.; MELLO, S.C.M.; PEIXOTO, J.R. Associação de isolados de *Trichoderma* spp. e ácido indol-3-butírico (AIB) na promoção de enraizamento de estacas e crescimento de maracujazeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 6, p. 966-972, 2010.
- SILVA FILHO, G.N.; NARLOCH, C.; SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 6, p. 847-854, 2002.
- SILVA, F. de A.S. **ASSISTAT**. Versão 7.6 beta. Campina Grande, 2008. <http://www.assistat.com/indexp.html>. 14 Fev. 2012.
- SILVA, V.N.; GUZZO, S.D.; LUCON, C.M.M.; HARA KAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, 2011.
- SOUCHIE, E.L.; AZCÓN, R.; BAREA, J.M.; SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; SILVA, E.M.R. Solubilização de fosfatos em meios sólido e líquido por bactérias e fungos do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 11, p. 1149-1152, 2005.
- SOUCHIE, E.L.; ABOUD, A.C.S.; CAPRONI, A.L. Solubilizadores de fosfatos *in vitro* por microrganismos rizosféricos de guandu. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 2, p. 53-60, 2007.
- VASSILEV, N.; MEDINA, A.; AZCÓN, R.; VASSILEVA, M. Microbial solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes and effect of the resulting products on plant growth and P uptake. **Plant and Soil**, Amsterdam, v. 287, n. 1-2, p. 77-84, 2006.