

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

Luanna Vanessa de Souza Cangussú

**ÁCIDOS HÚMICOS E *Serendipita indica*: EFEITOS SOBRE O
CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO, FISIOLOGIA E PRODUÇÃO DO
FEIJOEIRO**

Unai-MG

2022

Luanna Vanessa de Souza Cangussú

**ÁCIDOS HÚMICOS E *Serendipita indica*: EFEITOS SOBRE O CRESCIMENTO,
NUTRIÇÃO, FISIOLOGIA E PRODUÇÃO DO FEIJOEIRO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Barros Dobbss
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Tânia Pires da Silva

Unai-MG

2022

Catálogo na fonte - Sisbi/UFVJM

C222a Cangussú, Luanna Vanessa de Souza
2022 ÁCIDOS HÚMICOS E Serendipita indica: EFEITOS SOBRE O
CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO, FISILOGIA E PRODUÇÃO DO FEIJOEIRO
[manuscrito] / Luanna Vanessa de Souza Cangussú. --
Diamantina, 2022.
69 p. : il.

Orientadora: Prof.^a Leonardo Barros Dobbss.
Coorientador: Prof. Tânia Pires da Silva.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) -- Universidade
Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Programa de Pós-
Graduação em Produção Vegetal, Diamantina, 2022.

1. Phaseolus vulgaris L. 2. Matéria orgânica. 3.
Substâncias húmicas. 4. Produtividade. I. Dobbss, Leonardo
Barros. II. Silva, Tânia Pires da . III. Universidade Federal
dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. IV. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFMG com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Este produto é resultado do trabalho conjunto entre o bibliotecário Rodrigo Martins Cruz/CRB6-
2886
e a equipe do setor Portal/Diretoria de Comunicação Social da UFMG

LUANNA VANESSA DE SOUZA CANGUSSÚ


ÁCIDOS HÚMICOS E *Serendipita indica*: EFEITOS SOBRE O CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO, FISIOLOGIA E PRODUÇÃO DO FEIJOEIRO

Dissertação apresentada ao
PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO
VEGETAL, nível de MESTRADO como
parte dos requisitos para obtenção do
título de MESTRA EM PRODUÇÃO
VEGETAL


Orientador (a): Prof. Dr. Leonardo
Barros Dobbss

Co-orientadora: Prof. Dr. Tânia Pires
da Silva


Data da aprovação : 22/08/2022

Documento assinado digitalmente
 Leonardo Barros Dobbss
Data: 22/08/2022 21:48:09-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>


Prof. Dr. LEONARDO BARROS DOBBS - UFVJM

Documento assinado digitalmente
 TÂNIA PIRES DA SILVA
Data: 23/08/2022 16:55:17-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof. Dr.^a TÂNIA PIRES DA SILVA - UFVJM

Documento assinado digitalmente
 Wellington Ferreiracampos
Data: 23/08/2022 14:41:31-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof. Dr. WELLINGTON FERREIRA CAMPOS - UFVJM

Documento assinado digitalmente
 AMANDA AZEVEDO BERTOLAZI
Data: 24/08/2022 15:03:55-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof. Dr.^a AMANDA AZEVEDO BERTOLAZI - UVV

DIAMANTINA

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pelo Dom da vida, por me dar saúde e a oportunidade de concluir mais esta etapa em minha vida;

Aos meus pais, Sandra de Souza Oliveira e Vaguiney Fernandes Cangussú, e ao meu irmão, Lucas Vinícius de Souza Cangussú, pelo imenso amor e apoio em todos os momentos. A vocês os meus mais sinceros e profundos agradecimentos;

Ao meu esposo Paulo Sérgio Cardoso Batista, pelo amor, companheirismo, amizade, ajuda e apoio em todos os momentos;

Aos meus avós, tios, padrinhos e primos, pelos conselhos, ajuda, amizade. Sou muito grato a todos vocês, pois sempre estão do meu lado me apoiando;

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), pela oportunidade concedida para realização do mestrado e concessão da bolsa;

Ao meu orientador Leonardo Barros Dobbss, pelos ensinamentos, paciência, conselhos e confiança, imprescindíveis para a conclusão do mestrado;

Aos meus colegas de pós-graduação que sempre estiveram a disposição para auxílio na condução do experimento;

À Amanda e Sávio da Universidade de Vila Velha que auxiliaram na condução do experimento, cederam o fungo e sempre estiveram dispostos a tirar dúvidas;

À Amanda Azevedo Bertolazi e Wellington Ferreira Campos, pelas sugestões apresentadas e disponibilidade;

Aos professores da UFMG, pelos ensinamentos durante a realização do curso;

À Faculdade de Ciências e Tecnologia de Unai (FACTU) por ter cedido o local para realização do experimento em casa de vegetação;

A todos aqueles de quem, no momento, não me recordei, mas que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho,

Muito Obrigada!

RESUMO

CANGUSSÚ, Luanna Vanessa de Souza. **Ácidos húmicos e *Serendipita indica*: efeitos sobre o crescimento, nutrição, fisiologia e produção do feijoeiro.** (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2022.

Nos últimos anos o custo de produção das culturas agrícolas aumentou significativamente, surgindo assim a necessidade de empregar novas tecnologias sustentáveis na agricultura. Nesse contexto, a utilização de substâncias húmicas e de fungos promotores do crescimento, como *Serendipita indica*, surgem como uma excelente alternativa para aumentar a produtividade das culturas, como o feijoeiro. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do uso combinado, ou não, de ácidos húmicos isolados de vermicomposto e do fungo *Serendipita indica* sobre o crescimento, nutrição, fisiologia e produtividade do feijão-comum. O ácido húmico utilizado no experimento foi obtido de vermicomposto, utilizando esterco bovino como substrato para vermicompostagem. Neste trabalho foram conduzidos quatro experimentos. O primeiro buscou verificar a influência de cinco concentrações do ácido húmico (0, 50, 100, 200 e 400 mg L⁻¹) no crescimento do fungo *Serendipita indica*. O segundo avaliou a influência de seis concentrações de ácido húmico (0, 10, 50, 100, 200 e 400 mg L⁻¹) no desenvolvimento inicial do feijoeiro. O terceiro avaliou o ácido húmico e o fungo *Serendipita indica* na taxa de colonização fúngica, fisiologia, crescimento e produtividade do feijoeiro. Os tratamentos foram: T1: controle (sem o ácido húmico e sem o fungo); T2: somente o ácido húmico na concentração de 200 mg L⁻¹; T3: somente o fungo *Serendipita Indica*; T4: ácido húmico na concentração de 200 mg L⁻¹ mais o fungo *Serendipita indica*. No quarto experimento realizou a medida de acidez em solução possivelmente associada à atividade dos tratamentos sobre as H⁺-ATPases utilizando os mesmos tratamentos avaliados no terceiro experimento. A partir dos resultados verificou-se que a aplicação do ácido húmico não interfere no crescimento do fungo *Serendipita indica*. A concentração de ácido húmico de 200 mg L⁻¹ proporciona maior crescimento radicular no início da fase de crescimento das plantas de feijoeiro. A inoculação do fungo *Serendipita indica* proporciona maior colonização fúngica no sistema radicular do feijoeiro. A aplicação conjunta do ácido húmico na concentração de 200 mg L⁻¹ com o fungo *Serendipita indica* proporciona melhoria nas características fisiológicas, maior extrusão de prótons pelo sistema radicular, menor acúmulo de nitrogênio e maior de enxofre, ferro e manganês nas raízes do feijoeiro.

Palavras chave: *Phaseolus vulgaris* L. Matéria orgânica. Substâncias húmicas. Produtividade.

ABSTRACT

CANGUSSÚ, Luanna Vanessa de Souza. **Humic acids and *Serendipita indica*: effects on bean growth, nutrition, physiology and production.** (Dissertation - Masters in Plant Production) – Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valleys, Diamantina, 2022.

The sharp increase in crop production costs in recent years has increased the need for new sustainable technologies in agriculture. In this context, the use of humic substances and growth-promoting fungi, such as *Serendipita indica*, emerge as an excellent alternative to increase the productivity of crops, such as common bean. Thus, the study aimed to evaluate the effects of the combined use, or not, of humic acids isolated from vermicompost and the fungus *Serendipita indica* on the growth, nutrition, physiology and productivity of common bean. The humic acid used in the experiment was obtained from vermicompost, using bovine manure as a substrate for vermicomposting. In this work, four experiments were conducted. The first sought to verify the influence of five concentrations of humic acid (0, 50, 100, 200 and 400 mg L⁻¹) on the growth of the fungus *Serendipita indica*. The second evaluated the influence of six concentrations of humic acid (0, 10, 50, 100, 200 and 400 mg L⁻¹) on the initial development of common bean. The third evaluated humic acid and the fungus *Serendipita indica* on the fungal colonization rate, physiology, growth and productivity of common bean. The treatments were: T1: control (without humic acid and without the fungus); T2: only humic acid at a concentration of 200 mg L⁻¹; T3: only the fungus *Serendipita Indica*; T4: humic acid at a concentration of 200 mg L⁻¹ plus the fungus *Serendipita indica*. In the fourth experiment, the acidity in solution was measured, possibly associated with the activity of the treatments on the H⁺-ATPases, using the same treatments evaluated in the third experiment. From the results it was found that the application of humic acid does not interfere with the growth of the fungus *Serendipita indica*. The humic acid concentration of 200 mg L⁻¹ provides greater root growth at the beginning of the growth phase of bean plants. Inoculation of the fungus *Serendipita indica* provides greater fungal colonization in the root system of common bean. The joint application of humic acid at a concentration of 200 mg L⁻¹ with the fungus *Serendipita indica* provides improvement in physiological characteristics, greater extrusion of protons through the root system, higher grains productivity and provides less accumulation of nitrogen and greater sulfur, iron and manganese in the root system of the bean.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L. Organic matter. humic substances. Productivity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Crescimento do fungo <i>Serendipita indica</i> em placas de petri contendo meio Kaefer modificado e diferentes concentrações de ácido húmico.....	28
Figura 2 - Sistema radicular de plantas de feijoeiro submetido a diferentes concentrações de ácido húmico. Unaí-MG, 2022.....	29
Figura 3 - Área radicular (A) e número médio de raízes laterais (B) de feijoeiro submetido a diferentes concentrações de ácido húmico. Unaí-MG, 2022.....	30
Figura 4 - Diâmetro médio de raízes (A) e comprimento médio de raízes (B) de feijoeiro submetido a diferentes concentrações de ácido húmico. Unaí-MG, 2022.....	32
Figura 5 - Volume de raízes (A) e massa seca de raízes (B) de feijoeiro submetido a diferentes concentrações de ácido húmico. Unaí-MG, 2022.....	34
Figura 6 - Extrusão de prótons de raízes de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo <i>Serendipita indica</i>	36
Figura 7 - Micrografia representativa da colonização fúngica nas raízes de feijão nos seguintes tratamentos: testemunha (T1), ácido húmico (T2), fungo <i>Serendipita indica</i> (T3) e ácido húmico + fungo <i>Serendipita indica</i> (T4). Raízes colonizadas com a presença de esporos do <i>Serendipita indica</i> (setas pretas). As barras nas partes superiores das imagens de cada tratamento representam 20 μ M.....	37
Figura 8 - (A) eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Φ_2), (B) extinção de energia não fotoquímica (Φ_{NPQ}), (C) perda de energia não regulada (Φ_{NO}) e (D) fluxo linear de elétrons (LEF) de plantas de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo <i>Serendipita indica</i>	39
Figura 9 - (A) Condutividade de prótons da ATP sintase do cloroplasto (gH^+), (B) Taxa relativa de fluxo de prótons do estroma para o lúmen (vH^+), (C) Índice SPAD e (D) Sinal de deslocamento eletrocromico (ECS) de plantas de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo <i>Serendipita indica</i>	42
Figura 10 - Teor de nitrogênio (A) e enxofre (B) nas raízes de feijão submetido aos tratamentos com ácido húmico e fungo <i>Serendipita indica</i>	49
Figura 11 - Teor de ferro (A) e manganês (B) nas raízes de feijão submetido aos tratamentos com ácido húmico e fungo <i>Serendipita indica</i>	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Meio Kaefer modificado utilizado no cultivo do fungo <i>Serendipita indica</i>	19
Tabela 2 - Resultado da análise química e física do solo utilizado no experimento.....	24
Tabela 3 - Composição elementar, relações atômicas, acidez carboxílicas (COOH), fenólica (OH Fenólico) e total, relação E ₄ /E ₆ e índice de fluorescência (IF) dos ácidos húmicos de vermicomposto.....	27
Tabela 4 - Análise de variância para as variáveis área radicular (AR), número médio de raízes (NR), diâmetro médio de raízes (DR), comprimento de raízes (CR), volume de raízes (VR), massa seca de raízes (MSR), altura de plantas (ALT) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de feijão-comum submetidas a diferentes concentrações de ácido húmico.....	29
Tabela 5 - Altura de planta, comprimento de raízes (CR), volume de raízes (VR), massa fresca de raízes (MFR) e massa seca de raízes (MSR) de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo <i>Serendipita indica</i>	34
Tabela 6 - Modelo de concentração resposta para plantas de feijão após 10 dias em tratamento com ácido húmico oriundos de vermicompostagem.....	46
Tabela 7 - Número de vagens por planta (NVP), número de grãos por vagem (NGV), massa de cem grãos (MCG) e produtividade de grãos por parcela (PROD) de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo <i>Serendipita indica</i>	47
Tabela 8 - Análise de variância para o teor dos macronutrientes N (nitrogênio), P (fósforo), K (potássio), Ca (Cálcio), Mg (magnésio) e S (enxofre) acumulados nas raízes de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo <i>Serendipita indica</i>	49
Tabela 9 - Análise de variância para o teor dos micronutrientes B (boro), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn) e Zinco (Zn) acumulados nas raízes de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo <i>Serendipita indica</i>	52

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REFERENCIAL TEÓRICO	8
2.1 Aspectos gerais do feijão-comum	8
2.2 Substâncias húmicas.....	11
2.3 Microrganismos e seus benefícios para as plantas	13
2.4 <i>Serendipita indica</i>	14
2.5 Uso combinado de substâncias húmicas e microrganismos benéficos	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Obtenção, extração e purificação dos ácidos húmicos	18
3.2 Caracterização do ácidos húmicos isodados de vermicomposto	18
3.4 Experimento 1: Influência do ácido húmico no crescimento do fungo <i>Serendipita indica</i>	20
3.5 Experimento 2: Influência do ácido húmico no crescimento inicial do feijoeiro	20
3.6 Experimento 3: Medida de acidez em solução possivelmente associada à atividade dos tratamentos sobre as H ⁺ -ATPases.....	22
3.7 Experimento 4: Influência do ácido húmico e do fungo <i>Serendipita indica</i> na taxa de colonização fúngica, fisiologia, crescimento, produtividade e acúmulo de nutrientes do feijoeiro.....	23
3.8 Análise estatística.....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Caracterização do ácidos húmicos isodados de vermicomposto	27
4.2 Ensaio preliminar de concentrações de ácidos húmicos sobre o crescimento fúngico	28
4.3 Influência de diferentes concentrações dos ácidos húmicos no crescimento inicial do feijoeiro	29
4.4 Medida da acidez em solução	35
4.5 Influência do ácido húmico e do fungo <i>Serendipita indica</i> na taxa de colonização fúngica, fisiologia, morfologia, características produtivas e acúmulo de nutrientes do feijoeiro.....	36
4.5.1 Taxa de colonização fúngica	36
4.5.2 Fisiologia.....	39
4.5.3 Morfologia	45
4.5.4 Características produtivas.....	47
4.5.5 Acúmulo de nutrientes nas raízes.....	48
5 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta grande importância socioeconômica no Brasil, sendo uma importante fonte de proteínas, carboidratos e ferro (VIEIRA *et al.*, 2006). A produção de feijão total no Brasil na safra 2020/2021 foi de 2,89 milhões de toneladas, em uma área de 2,923 milhões de hectares e produtividade média de grãos de 990 kg ha⁻¹. Os estados com maior produção são Paraná e Minas Gerais (CONAB, 2022).

O feijoeiro possui baixa produtividade média, principalmente devido ao manejo inadequado da cultura e ao baixo nível tecnológico empregado por muitos produtores. Diante disso e da crescente demanda por alimentos surge a necessidade de empregar novas tecnologias aos sistemas produtivos, a fim de melhorar o rendimento e o desenvolvimento agrônômico do feijão-comum, bem como reduzir os custos de produção e aumentar a efetividade da cultura em regiões com características que limitam o cultivo (OLIVEIRA *et al.*, 2015). Tecnologias sustentáveis como a utilização de microrganismos benéficos e substâncias húmicas tem demonstrado resultados positivos na promoção do crescimento e produtividade das plantas (TREVISAN *et al.*, 2011; BALDOTTO e BALDOTTO, 2014; RAI *et al.*, 2014; ALVES *et al.*, 2015).

Vários microrganismos podem ser explorados como promotores de crescimento vegetal, destacando-se as bactérias e os fungos endofíticos. A promoção do crescimento das plantas está associada a vários benefícios que esses microrganismos podem proporcionar para as plantas, como a fixação do nitrogênio, solubilização de fósforo, mobilização e transporte de nutrientes para a planta, aumento da área de absorção das raízes, produção de hormônios vegetais, proteção das plantas contra patógenos e aumento da tolerância das plantas a estresses abióticos (CASTIGLIONI *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2008).

O fungo *Seredipita indica* é um endossimbionte biotrófico pertencente a ordem Sebaciales e possui ação semelhante à dos fungos micorrízicos arbusculares (UNNIKUMAR *et al.*, 2013). Entretanto, é facilmente cultivável e possui pouca especificidade em relação aos seus hospedeiros, colonizando assim as raízes de várias espécies de plantas (VARMA *et al.*, 2001). Trabalhos tem demonstrado que esse fungo está envolvido na melhoria do crescimento e rendimento das culturas (SU *et al.*, 2017), na tolerância a estresse hídrico, salino e osmótico (LI *et al.*, 2017; SADDIQUE *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2017), na tolerância a metais pesados (HUI *et al.*, 2015), na solubilização de fosfato de fontes inorgânicas (NGWENE *et al.*, 2016) e na resistência a doenças (FAKHRO *et al.*, 2010; UNNIKUMAR *et al.*, 2013).

As substâncias húmicas são compostos orgânicos condensados produzidos pela ação microbiana durante o processo de degradação da matéria orgânica e são constituídas pelas frações ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas (BALDOTTO e BALDOTTO, 2014). Os ácidos húmicos são a fração mais ativa das substâncias húmicas e podem proporcionar melhorias nas características químicas e físicas do solo, além de promover efeitos diretos no crescimento e produtividade de plantas (MORA *et al.*, 2012; KAZEMI, 2014; CANELLAS *et al.*, 2015).

A utilização associada de microrganismos promotores do crescimento e substâncias húmicas têm demonstrado maior eficiência do que a utilização isolada em diversas culturas agrícolas, como milho (CONCEIÇÃO *et al.*, 2009; LIMA *et al.*, 2017), tomate (OLIVARES *et al.*, 2015) e cana-de-açúcar (AGUIAR *et al.*, 2016). Assim, é de grande importância a avaliação conjunta das substâncias húmicas com outros microrganismos promotores do crescimento, como o fungo *Serendipita indica* em mais culturas de importância econômica, como o feijoeiro.

Dessa forma, o trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do uso combinado, ou não, de ácidos húmicos isolados de vermicomposto e do fungo *Serendipita indica* sobre o crescimento, nutrição, fisiologia e produtividade do feijão-comum.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais do feijão-comum

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta herbácea anual que pertence à classe das Eudicotiledôneas, família Leguminosa, subfamília Papilionoideae e gênero *Phaseolus* L. O gênero *Phaseolus* tem como centro de origem as Américas e apresenta aproximadamente 55 espécies, contudo apenas cinco são cultivadas. Dentre as espécies cultivadas do gênero *Phaseolus*, a *Phaseolus vulgaris* L. é a mais importante, por ser a espécie mais antiga cultivada e a mais utilizada nos cinco continentes (SANTOS e GAVILANES, 2011).

O feijão-comum apresenta relevante importância socioeconômica no Brasil e no mundo, pois está presente diariamente na dieta do brasileiro, sendo um dos alimentos mais consumidos e apresenta-se como importante fonte de proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais, fibras e compostos fenólicos. É uma cultura cultivada por pequenos, médios e grandes

produtores em diferentes sistemas de produção e em praticamente todas as regiões brasileiras (BARBOSA e GONZAGA, 2012).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de feijão. A produção de feijão total na safra 2020/2021 foi de 2,89 milhões de toneladas, com uma área de 2,92 milhões de hectares e produtividade média de grãos de 990 kg ha⁻¹. Minas Gerais é o segundo maior produtor, com uma produção de 529 mil toneladas, atrás apenas do Paraná, com produção de 534 mil toneladas (CONAB, 2022).

O feijoeiro é uma planta que possui sistema radicular pivotante com grande volume de raízes localizadas nos primeiros 10 cm superficiais do solo. Suas folhas são pecioladas, trifolioladas, alternas, exceto as primeiras folhas emergentes que são simples e opostas, sendo que o caule é herbáceo. O caule é formado por uma sucessão de nós e entrenós, onde estão inseridos os cotilédones no primeiro nó, as folhas primárias no segundo nó e as folhas trifoliadas ou definitivas a partir do terceiro nó (SILVA e COSTA, 2003).

As flores do feijoeiro podem ter coloração branca, rósea ou violeta, distribuída uniformemente por toda a corola, ou ser bicolor, ou seja, apresentar corola com estandarte e asas com colorações diferentes. Conhecido como vagem, o fruto é um legume deiscente, com duas valvas unidas por duas suturas, uma dorsal e outra ventral, cuja forma pode ser reta, arqueada ou recurvada. A semente é exalbuminosa, apresentando em sua constituição um tegumento ou testa, hilo, micrópila e internamente um embrião formado pela plúmula, duas folhas primárias, hipocótilo, dois cotilédones e radícula. Apresenta forma arredondada, elíptica, reniforme ou oblonga e tamanhos variados (SILVA e COSTA, 2003, VIEIRA *et al.*, 2005).

O feijoeiro pode apresentar hábito de crescimento determinado ou indeterminado de acordo com a posição da inflorescência na planta. De acordo com Didonet e Carvalho (2014) plantas de crescimento determinado ao atingir a fase reprodutiva apresentam inflorescências terminais no caule e nos ramos laterais, com floração do ápice para base. Já as plantas de crescimento indeterminado apresentam meristemas vegetativos no ápice do caule e ramos laterais, continuando dessa forma seu crescimento. Apresentam inflorescências axilares e o processo de floração inicia da base em direção ao ápice.

O feijoeiro pode ser classificado em quatro tipos de acordo com o hábito de crescimento, número de nós, comprimento dos internódios, intensidade de ramificação lateral e habilidade trepadora da planta. Plantas tipo I apresentam hábito de crescimento determinado, aspecto arbustivo e porte ereto; tipo II possuem hábito de crescimento indeterminado, aspecto arbustivo, porte ereto e caule pouco ramificado; tipo III são de hábito de crescimento

indeterminado, porte semiprostrado com ramificação aberta; tipo IV tem hábito de crescimento indeterminado e habilidade trepadora (NASSAR *et al.*, 2010).

No Brasil, o cultivo do feijão-comum pode ser realizado em diferentes ambientes, desde sistemas irrigados altamente tecnificados até sistemas de cultivos tradicionais com baixo nível tecnológico (CAROVIC-STANKO *et al.*, 2017). O feijoeiro muitas vezes é cultivado em condições ambientais adversas tendo sua produtividade limitada por estresses abióticos como salinidade, seca, temperaturas elevadas e baixa disponibilidade de nutrientes (MITTLER, 2006).

O feijoeiro possui ciclo curto, em média 90 dias, e um sistema radicular pouco desenvolvido. Por isso é uma planta altamente exigente em nutrientes e necessita que esses estejam disponíveis nos momentos de maior demanda do ciclo, para que não haja redução na produtividade de grãos (SILVA e SILVEIRA, 2000). Além da disponibilidade de nutrientes, fatores climáticos como temperatura e precipitação pluviométrica influenciam diretamente a produtividade da cultura (FANCELLI, 2009).

A faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento do feijoeiro encontra-se entre 15 e 27°C, sendo apta para o cultivo regiões que apresentam valores de 15 a 29°C (FANCELLI, 2009). Temperaturas muito elevadas, entre 30 e 40°C, ocasiona abortamento de flores e baixo pegamento de vagens, enquanto em condições de baixa temperatura a cultura tem o ciclo prolongado (FANCELLI e DOURADO NETO, 2005). O feijoeiro necessita de chuvas bem distribuídas ao longo de seu ciclo e possui uma demanda hídrica variando de 300 a 600 mm (DOURADO NETO e FANCELLI, 2000).

A semeadura do feijoeiro-comum é concentrada em três épocas ou safras no Brasil. Na 1ª safra, conhecida como “safra das águas”, a semeadura é geralmente realizada entre os meses de setembro e novembro e colheita de janeiro até março. Na 2ª safra, conhecida como “safra da seca” ou “safrinha”, a semeadura é realizada de fevereiro a março e a colheita ocorre entre os meses de junho e julho. Na 3ª safra, conhecida como “safra de outono-inverno” e “safra irrigada”, a semeadura é feita a entre abril e junho, com a colheita entre junho e setembro. As diferenças nas épocas de semeadura ocorrem em virtude das características regionais, da diversidade climática e das características da cultura do feijoeiro-comum, contribuindo assim, para manutenção da oferta e reduzindo as oscilações dos preços ao longo do ano (SILVA e DEL PELOSO, 2006; BARBOSA e GONZAGA, 2012).

2.2 Substâncias húmicas

A matéria orgânica do solo constitui-se de todo material orgânico depositado no solo, como os resíduos vegetais, biomassa microbiana, meso e macrofauna, substâncias orgânicas solúveis e substâncias húmicas, podendo ou não estar associados à fração mineral. Por ser um conjunto heterogêneo de materiais orgânicos, os compartimentos funcionais da matéria orgânica, apresentam diferenças com relação à decomposição microbiana, constituindo fator crucial para o entendimento da dinâmica do carbono orgânico no solo (CARTER, 2001).

A matéria orgânica do solo é constituída por uma fração humificada e uma fração não humificada, podendo assim ser dividida em dois grandes compartimentos. As substâncias que integram a matéria orgânica humificada podem ser divididas em três diferentes grupos conforme a sua solubilidade em meio aquoso. Esses três grupos são: ácidos fúlvicos, solúveis em pH ácido ou alcalino; ácidos húmicos, solúveis em pH alcalino e; humina, insolúvel em qualquer pH. Esses grupos apresentam variação de acordo com a massa molecular, sendo que os ácidos fúlvicos apresentam menor massa molecular, seguidos dos ácidos húmicos e humina (ZECH *et al.*, 1997).

As substâncias húmicas (SH) são a fração mais estável da matéria orgânica do solo, pois consistem no produto da decomposição microbiana e degradação química da matéria orgânica dos solos (SCHIAVON *et al.*, 2010). São os principais componentes da matéria orgânica e constituem cerca de 85 a 90% da reserva total do carbono orgânico do solo (ZAVARZINA e ZAVARZIN, 2013; CANELAS e OLIVARES, 2014).

As substâncias húmicas possuem moléculas bioativas que atuam nos processos fisiológicos e bioquímicos das plantas afetando seu crescimento e metabolismo (CANELLAS *et al.*, 2009). Essas substâncias estimulam a produção de hormônios vegetais naturais, como auxinas, giberelinas e citocininas (SILVA *et al.*, 2011) e ativam bombas de prótons relacionadas ao crescimento das plantas (RAYLE e CLELAND, 1992).

As bombas de prótons são responsáveis pelo efluxo de H^+ para o apoplasto ou vacúolo celular, formando um gradiente eletroquímico de H^+ envolvido no crescimento e nutrição da célula vegetal (SHAVRUKOV e HIRAI, 2016). As células vegetais e fúngicas possuem dois tipos de bombas de prótons. A ATPase do tipo P, presente na membrana plasmática das células, bombeia prótons para o meio externo, e a ATPase do tipo V que está associada a membrana vacuolar ou endomembranas e é responsável por acidificar os compartimentos intracelulares (SZE e CHANROJ, 2018). As células vegetais possuem além das ATPases, uma bomba de

prótons denominada H^+ -PPase que trabalha em conjunto com as H^+ -ATPases vacuolar criando um gradiente de prótons na membrana do tonoplasto (LIN *et al.*, 2012).

As substâncias húmicas podem aumentar a atividade da enzima H^+ -ATPase. Essa enzima é uma proteína de membrana que bombeia prótons do citoplasma para o apoplasto celular gerando um gradiente eletroquímico de prótons que desempenha papel fundamental no fornecimento de energia para o transporte de íons secundários através da membrana plasmática, desempenhando importantes funções fisiológicas relacionadas com absorção de nutrientes, abertura estomática, regulação do pH intracelular e crescimento celular (FALHOF *et al.*, 2016).

Os mecanismos pelos quais a ativação da enzima H^+ -ATPase promove o crescimento das plantas está relacionada com a teoria do crescimento ácido. De acordo com essa teoria, a acidificação do apoplasto mediada pela H^+ -ATPase é responsável pelo afrouxamento da parede celular da célula vegetal causando conseqüentemente seu alongamento (STAAL *et al.*, 2011). Sendo assim, as substâncias húmicas podem regular o crescimento e desenvolvimento das plantas diretamente pela ativação da H^+ - ATPase, entretanto podem favorecer as plantas por mecanismos indiretos. Os efeitos indiretos estão relacionados com o aumento da capacidade de troca catiônica (CTC) e capacidade tampão de nutrientes no solo; fornecimento de nutrientes; melhoria da estrutura do solo e fornecimento de compostos específicos como fitohormônios, compostos nitrogenados e cadeias carbonadas para as plantas e estimulam ainda a síntese de proteínas e fotossíntese das plantas (CHEN *et al.*, 2004; SEYEDBAGHERI, 2010). Dessa forma, as substâncias húmicas podem promover o enraizamento de diversas plantas de interesse agrônômico, além de exercer efeitos estimulantes na parte aérea das plantas, como incrementos do acúmulo de nutrientes foliares e síntese de clorofilas (BALDOTTO *et al.*, 2009).

Os principais efeitos biológicos dos ácidos húmicos sobre as plantas estão relacionados ao sistema radicular, por meio da formação de pêlos radiculares, raízes laterais, raízes adventícias e alongamento da raiz. Essas modificações na morfologia das raízes tornam mais eficientes a absorção de água e nutrientes pelas plantas, aumentam a área e superfície radicular e favorece a interação planta-microrganismo por meio do aumento dos locais de contato e colonização das raízes (BALDOTTO e BALDOTTO, 2014). Entretanto, seus efeitos dependem da fonte de origem, concentração aplicada e espécies de plantas (GARCÍA *et al.*, 2016).

A maior bioatividade dos ácidos húmicos em relação às outras frações das substâncias húmicas pode ser encontrada em sua natureza química, já que os ácidos húmicos possuem maior hidrofobicidade. De acordo com Piccolo (1996), os componentes hidrofóbicos,

provenientes da degradação das plantas, incorporam moléculas em seus domínios hidrofóbicos protegendo-as da degradação. Desta forma, a proteção de biofragmentos fisiologicamente ativos nos domínios hidrofóbicos podem tornar os ácidos húmicos mais ativos. Segundo Dobbss *et al.* (2010), os efeitos do ácido húmico no crescimento radicular podem ser avaliados pelo índice hidrofóbico.

2.3 Microrganismos e seus benefícios para as plantas

Diversos microrganismos, referidos na literatura como promotores de crescimento vegetal, possuem a capacidade de se associar as plantas promovendo a elas uma série de benefícios no seu crescimento e desenvolvimento (ABHILASH *et al.*, 2016). A utilização desses microrganismos representa uma alternativa sustentável para redução do uso de insumos sintéticos na agricultura (CHAGAS *et al.*, 2017), uma vez que o uso indiscriminado de fertilizantes químicos pode ocasionar vários problemas ambientais como a poluição do solo, contaminação de águas superficiais e subterrâneas e aumento da emissão de gases de efeito estufa (XIA *et al.*, 2020).

Os microrganismos benéficos podem promover o crescimento das plantas de várias maneiras podendo atuar no transporte e mobilização de nutrientes, por meio da solubilização de fósforo e fixação biológica de nitrogênio, aumento da área radicular, produção de fitohormônios e proteção das plantas contra patógenos. Além disso, podem auxiliar na tolerância das plantas contra estresses abióticos como a salinidade e seca (CASTIGLIONI *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2008).

Vários organismos presentes na rizosfera apresentam efeitos benéficos na sanidade e crescimento das plantas. Dentre esses organismos podem-se citar as bactérias fixadoras de nitrogênio, rizobactérias promotoras de crescimento das plantas, organismos de controle biológico e fungos micorrízicos arbusculares (MENDES *et al.*, 2013).

A fixação biológica de nitrogênio é um processo natural no qual organismos procariotos denominados diazotróficos reduzem o nitrogênio atmosférico à amônia, por possuírem uma enzima denominada nitrogenase, tornando-o disponível para as plantas de forma a suprir parcial ou totalmente a quantidade requerida pela cultura. Os microrganismos que realizam esse processo podem ser de vida livre, estar associados a espécies de plantas ou estabelecer simbiose com as espécies vegetais (MOREIRA *et al.*, 2010). Entretanto, o processo de fixação biológica de nitrogênio mais eficiente ocorre pela associação simbiótica de plantas

da família Leguminosae com bactérias pertencentes a diversos gêneros, tais como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Ensifer* e *Mesorhizobium* (HUNGRIA *et al.*, 2007).

As rizobactérias podem produzir metabólitos que estão diretamente relacionados ao crescimento das plantas, como as auxinas, giberelinas e citocininas. Proporcionam também maior desenvolvimento das raízes e da parte aérea das plantas pela modificação das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Podem ainda sintetizar antibióticos, sideróforos e ácido hidrocínâmico que diminuem a atividade de muitos patógenos (DIMKPA *et al.*, 2009; CHAUHAN *et al.*, 2013). Existem vários gêneros de rizobactérias promotoras de crescimento, tais como: *Agrobacterium*, *Arthronacter*, *Azobacter*, *Bacillus*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Erwinia*, *Micrococcus* e *Pseudomonas* (AHEMAD e KIBRET, 2014).

Com relação aos fungos, os do gênero *Trichoderma* estão entre os principais organismos de controle biológico estudados, podendo atuar também como promotores de crescimento vegetal. Eles podem estabelecer interações simbióticas com as raízes das plantas, estimulando o crescimento vegetal por meio da síntese de fitohormônios, solubilização de fosfato natural e aumento da absorção de nutrientes disponíveis no solo (CADORE, 2018). Além disso, eles atuam como agentes de controle de várias doenças nas plantas cultivadas (ASUMING-BREMPPONG, 2013).

Já, os fungos micorrízicos arbusculares são simbiontes obrigatórios, associam-se mutualisticamente com o sistema radicular de plantas superiores e destacam-se por colonizar as raízes da maioria das plantas terrestres. Esses fungos exploram um grande volume de solo, até fora da área de abrangência do sistema radicular, utilizando sua rede de hifas, possibilitando maior absorção de água e nutrientes, inclusive aqueles com baixa mobilidade do solo, como o fósforo (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Podem ainda aumentar o vigor e a capacidade de sobrevivência das plantas, a tolerância aos patógenos radiculares (NOGALES *et al.*, 2009) e a tolerância das plantas aos metais pesados existentes em solos contaminados, por serem capazes de retê-los nas raízes reduzindo a translocação para a parte aérea (CABRAL *et al.*, 2010).

2.4 *Serendipita indica*

Nos ecossistemas naturais, as plantas frequentemente apresentam-se altamente colonizadas por fungos endofíticos. Os fungos endofíticos são microrganismos que vivem de forma simbiótica com as plantas, ou seja, sem prejudicar o desenvolvimento destas. Estão presentes no interior das plantas em parte ou durante todo seu ciclo de vida (DUTTA *et al.*, 2014), podendo ser encontrados em diferentes órgãos e tecidos (FELBER *et al.*, 2016).

Frequentemente os fungos endofíticos estabelecem interações mutualísticas com seus hospedeiros, onde ambos são beneficiados. A interação mutualística planta-fungo mais intensamente estudada é conhecida por simbiose micorrízica arbuscular (OLDROYD, 2013).

Serendipita indica, anteriormente denominado *Piriformospora indica*, é um fungo endofítico que interage de maneira mutualística com as raízes de diversas espécies de plantas pertencente ao filo Basidiomycota, ordem Sebaciales e família Serendipitaceae (WEIß *et al.*, 2016). Esse fungo foi isolado do sistema radicular das espécies *Prosopis juliflora* e *Zizyphus mummularia* no deserto de Thar na Índia (VERMA *et al.*, 1998a) e possui ação micorrízica semelhante aos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) pois, tem a capacidade de promover o crescimento das plantas por meio do aumento da disponibilidade de nutrientes pela solubilização do fosfato inorgânico (SHERAMETI *et al.*, 2005 e VARMA *et al.*, 1999). Entretanto, se difere dos fungos micorrízicos arbusculares por ser facilmente cultivado em culturas axênicas, formando de maneira assexuada clamidósporos contendo de 8 a 25 núcleos (VERMA *et al.*, 1998b).

O fungo *Serendipita indica* pode colonizar uma ampla gama de hospedeiros, proporcionando as plantas diferentes benefícios, tais como promoção de crescimento, tolerância a estresses bióticos e abióticos e absorção de nutrientes (UNNIKUMAR *et al.*, 2013). *Serendipita indica* cresce inter e intracelularmente, produz clamidósporos em formato de pêra no córtex das raízes colonizadas e na zona da rizosfera, contudo não atinge a endoderme e as partes aéreas das plantas (VARMA *et al.*, 2012) e apresenta estilo de vida bifásico (ZUCCARO *et al.*, 2011), isso porque a primeira fase da colonização fúngica começa com crescimento biotrófico, na qual as células vivas são colonizadas e posteriormente ocorre a segunda fase, na qual as células das raízes são mortas pelo fungo (QIANG *et al.*, 2011).

A colonização bem sucedida do fungo *Serendipita indica* com as espécies hospedeiras depende da supressão do sistema imunológico da raiz, inato da planta. Essa supressão é mediada por alterações na produção de fitohormônios e elevação de cálcio intracelular na planta colonizada, funcionando como sinalizadores durante o reconhecimento microrganismo benéfico-planta (GILL *et al.*, 2016), sendo assim a associação eficiente do fungo bem como seus efeitos benéficos para as plantas dependem dos processos de reconhecimento e sinalização que são ativados na planta em resposta ao fungo *Serendipita indica* (OELMÜLLER *et al.*, 2009).

A associação do fungo *Serendipita indica* com as plantas promove aumento na aquisição de nutrientes e na tolerância aos estresses salino, térmico e hídrico; confere resistência sistêmica a insetos, organismos patogênicos, toxinas e íons de metais pesados (DAS *et al.*,

2012a). Além disso, estimula a floração precoce, produção de sementes, produção de biomassa e endurecimento biológico a plantas cultivadas em cultura de tecido (DAS *et al.*, 2012b).

Su *et al.* (2017), em experimento avaliando o efeito do fungo *Serendipita indica* em plantas de canola (*Brassica napus* L.), obtiveram resultados onde as plantas tratadas com o fungo apresentaram um aumento significativo nos parâmetros agrônômicos como biomassa vegetal, resistência ao acamamento e rendimento e qualidade do óleo. Saddique *et al.* (2018), avaliando a inoculação de *Serendipita indica* em plantas de arroz sob estresse osmótico, observaram que a biomassa das mudas e o comprimento da raiz e da parte aérea das plantas de arroz melhoraram significativamente nas plantas inoculadas. Li *et al.* (2017) relataram que o fungo *Serendipita indica*, aliviou o estresse salino em *Medicago truncatula*. Zhang *et al.* (2017) observaram que plântulas de milho colonizadas com *Serendipita indica* mostraram maior tolerância ao déficit hídrico, pelo fungo ter proporcionado maior expressão de genes relacionados à tolerância à seca.

Ngwene *et al.* (2016) observaram que *Serendipita indica* é capaz de solubilizar fosfato de fontes inorgânicas, deixando fósforo disponível para as plantas. Já, Hui *et al.* (2015) verificaram que *Serendipita indica* confere tolerância ao cádmio em plantas de tabaco *Nicotiana tabacum*. Segundo os autores a maior tolerância está relacionado ao sequestro de Cd nas raízes promovida pela interação, de forma que muito menos cádmio é transportado para as folhas.

2.5 Uso combinado de substâncias húmicas e microrganismos benéficos

A utilização de insumos agrícolas sustentáveis tem sido uma tendência global dos sistemas produtivos e, diante dessa perspectiva, tem-se aumentado o uso de bioestimulantes vegetais. Esses são definidos como substâncias ou microrganismos aplicados às plantas em pequenas quantidades a fim de promover o crescimento vegetal por meio do aumento da eficiência nutricional, melhoria das características de qualidade das culturas e tolerância ao estresse biótico e abiótico (DU JARDIN, 2015).

As substâncias húmicas não regulam apenas a nutrição e o desenvolvimento das plantas, elas próprias podem ser fonte de nutrientes para microrganismos (TIKHONOVA *et al.*, 2010), bem como favorecer a colonização dos microrganismos nas plantas através de mudanças anatômicas e fisiológicas no sistema radicular favorecendo assim a fixação e sobrevivência de bactérias na superfície da planta, bem como a colonização endofítica (OLIVARES *et al.*, 2017).

Os ácidos húmicos podem elevar a população de bactérias diazotróficas no interior da planta, trazendo assim uma série de benefícios para ela (MARQUES JÚNIOR, 2006). Isso

ocorre porque os ácidos húmicos aumentam o enraizamento e emergência de raízes laterais das plantas, aumentando desta forma os sítios de colonização para as bactérias (CONCEIÇÃO *et al.*, 2009).

Foi observado por meio de experimentos conduzidos por Canellas *et al.* (2012), em casa de vegetação e em campo, que a associação de substâncias húmicas com a bactéria diazotrófica endofítica *Herbaspirillum seropedicae* aumenta o crescimento do milho (*Zea mays* L.). No experimento em casa de vegetação a associação bactéria/substância húmica aumentou a fotossíntese líquida, atividade da H⁺-ATPase da membrana plasmática e o número de células bacterianas viáveis no sistema radicular nos estágios iniciais do milho. Já no experimento em campo a associação aumentou a produção de grãos de milho em 65%, mostrando desta maneira o uso promissor das substâncias húmicas no favorecimento da inoculação diazotrófica endofítica.

Canellas *et al.* (2019) avaliando a influência dos ácidos húmicos na exsudação radicular de mudas de milho observaram alteração no perfil de exsudação das raízes, liberando uma série de compostos que interferem na comunidade microbiana presente na rizosfera. Muitas das moléculas exsudadas podem favorecer os microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV), os quais podem estabelecer interações com as plantas auxiliando seu crescimento e desenvolvimento por diferentes mecanismos.

A associação de substâncias húmicas e microrganismos benéficos podem aumentar a tolerância do feijoeiro a seca. Melo *et al.* (2017), avaliando os efeitos da coinoculação de rizóbio misto e *Herbaspirillum seropedicae* na presença de substâncias do tipo ácido húmico em vaso, constatou que houve melhoria na recuperação do feijão comum, após estresse hídrico controlado.

Foram observados também resultados positivos da associação de substâncias húmicas e bactérias promotoras de crescimento de plantas na produção de tomates orgânicos. Segundo Olivares *et al.* (2015), o uso combinado de substâncias húmicas e bactéria *Herbaspirillum seropedicae*, estimulou o metabolismo secundário e a defesa da planta, acelerou o crescimento das mudas, além de proporcionar aumento na produtividade e qualidade dos frutos de tomate.

Muitos trabalhos têm demonstrado que a utilização associada de microrganismos promotores do crescimento e substâncias húmicas têm apresentado maior eficiência no crescimento e produtividade do que a utilização isolada em diversas culturas, tais como milho (CONCEIÇÃO *et al.*, 2009; LIMA *et al.*, 2017), tomate (OLIVARES *et al.*, 2015) e cana-de-açúcar (AGUIAR *et al.*, 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção, extração e purificação dos ácidos húmicos

O ácido húmico utilizado no experimento foi obtido de vermicomposto, utilizando esterco bovino como substrato para vermicompostagem. O esterco bovino foi primeiramente compostado termofílicamente por 40 dias, com torneamento mecânico a cada 10 dias. Posteriormente, o composto foi vermicompostado em sistema de minhocultura vertical (minhobox) em caixas plásticas de 50L por 120 dias, utilizando-se uma densidade de 50 minhocas (*Eisenia foetida*) para cada quilo de esterco bovino. A umidade foi ajustada para 70% com um kit de sensor de umidade (SMRT-Y) e mantida durante todo o processo.

Após a obtenção do vermicomposto realizou-se a extração do ácido húmico no Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, seguindo o protocolo clássico desenvolvido pela Sociedade Internacional das Substâncias Húmicas (IHSS). Para realização da extração foram utilizados 200 g de vermicomposto e 2000 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹ (relação vermicomposto:solvente de 1:10). O material então foi agitado por um período de 12 horas e, posteriormente, permaneceu em repouso. O extrato solúvel foi retirado por sifonação e teve o pH diminuído até 1-1,5 utilizando-se ácido clorídrico 6,0 mol L⁻¹. O material acidificado foi centrifugado (3000 rpm por 30 min) para obtenção dos ácidos húmicos. Após a obtenção dos ácidos húmicos, eles foram lavados até teste negativo de cloreto, com o AgNO₃, e então foram acondicionados em membranas de diálise de 2000 Daltons para realização da purificação por meio da diálise. Esta foi realizada com água destilada e monitorada pela medição da condutividade elétrica da solução. Após a diálise, os ácidos húmicos foram congelados e posteriormente secos por liofilização.

3.2 Caracterização do ácido húmico isodado de vermicomposto

Para caracterização dos ácidos húmicos húmicos foram realizadas as análises de composição elementar (CHNO) em analisador elementar automático Perkin Elmer utilizando-se de 4 mg de ácidos húmicos, acidez total determinada pelo método do Ba(OH)₂, acidez carboxílica pelo tratamento com Ca(OAc)₂ e acidez fenólica por diferença (acidez total - carboxílica), relação E₄/E₆ obtida pelas absorvâncias em 465 e 665 nm respectivamente e

intensidade de fluorescência por espectroscopia de emissão com excitação no comprimento de onda na região do azul (465 nm) com a faixa de varredura de 485 nm a 800 nm.

3.3 Obtenção do fungo *Serendipita indica* e preparo do inóculo

O fungo *Serendipita indica* foi obtido da coleção da professora Cristina Cruz, Universidade de Lisboa. A manutenção do fungo foi realizada a cada 45 dias, sendo retirado discos de 1 cm de diâmetro das bordas das colônias fúngicas crescidas em meio Kaefer modificado (Tabela 1) (SHERAMETI *et al.*, 2008) e transferidos para outras placas contendo o mesmo meio de cultura.

Tabela 1. Meio Kaefer modificado utilizado no cultivo do fungo *Serendipita indica*.

Meio Kaefer	
Reagentes	Quantidade L⁻¹
Glucose	2 g
Peptona	2 g
Extrato de Levedura	1 g
Caseína Hidrolizada	1 g
Solução de Macronutrientes (2)	50 ml
Solução de Micronutrientes (3)	10 ml
Ferro EDTA (4)	1 ml
Solução de Vitaminas (5)	1 ml
Ágar	20 g
2. Solução de Macronutrientes	
NaNO ₃	12,0 g
KCl	10,4 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	10,4 g
KH ₂ PO ₄	30,4 g
3. Solução de Micronutrientes	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	2,2 g
MnSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
Ácido Bórico	1,1 g
CoCl ₂ .5H ₂ O	160 mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	160 mg
Molibdato de Amônio	110 mg
4. Solução de Ferro EDTA	
FeSO ₄ .7H ₂ O	556 mg em 50 ml de H ₂ O
EDTA	744 mg em 50 ml de H ₂ O
5. Solução de Vitaminas	
Tiamina	100 mg
Glicina	40 mg
Piridoxina	10 mg
Ácido Nicotínico	10 mg

3.4 Experimento 1: Influência do ácido húmico no crescimento do fungo *Serendipita indica*

Foi realizado um ensaio preliminar na Universidade Vila Velha-ES, em parceria com o laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia, para verificar a influência do ácido húmico no crescimento do fungo *Serendipita indica*. Esse experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições e cinco tratamentos, sendo esses constituídos pelas diferentes concentrações dos ácidos húmicos (0, 50, 100, 200 e 400 mg L⁻¹).

Para realização deste experimento foram retirados discos de 1 cm de diâmetro das bordas das placas matrizes do fungo e, em seguida, foram transferidos para placas de Petri contendo 25 ml do meio Kaefer modificado com adição de 1,5% de ágar-ágar contendo as diferentes concentrações de ácido húmico. O pH do meio de cultura foi ajustado para 6,5. Os discos foram posicionados no centro das placas de maneira que o micélio fúngico contido no mesmo permanecesse em contato com o meio. Posteriormente, as placas de Petri foram incubadas por 13 dias em BOD, a uma temperatura de 28°C.

A taxa de crescimento fúngico foi inferida pela medição do micélio fúngico. A medição foi realizada com auxílio de uma régua milimétrica medindo-se o diâmetro do micélio, sendo considerado as extremidades da hifa como parâmetro.

3.5 Experimento 2: Influência do ácido húmico no crescimento inicial do feijoeiro

Esse experimento foi realizado na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, no Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa do Instituto de Ciências Agrárias. A cultivar de feijão utilizada foi a TAA Dama. Esta cultivar apresenta ciclo de 85 a 95 dias, porte prostrado e hábito de crescimento indeterminado tipo III (MAPA, 2022).

Para a realização desse experimento, primeiramente foi feita a germinação das sementes de feijão em caixas de areia contendo como substrato areia e vermiculita na proporção 1:1. Sete dias após a germinação das sementes foi realizado o transplante das mudas para vasos do tipo Leonard, selecionando previamente as plântulas mais uniformes.

As plantas transplantadas passaram por um período de aclimação por dois dias e após esse período foram submetidas aos respectivos tratamentos e a uma solução mínima (meio mínimo) contendo cloreto de cálcio (0,002 mol L⁻¹), por dez dias. Essa solução foi utilizada para garantir a sobrevivência das plantas até o momento de realização das análises, sem interferência na disponibilidade de nutrientes para elas. Os nutrientes podem funcionar de

maneira sinérgica com os ácidos húmicos estimulando o desenvolvimento radicular e o metabolismo das plantas, comprometendo assim a identificação do efeito isolado do bioestimulante.

O experimento foi conduzido no delineamento em blocos casualizados com 6 tratamentos (0, 10, 50, 100, 200 e 400 mg L⁻¹ de ácido húmico), quatro repetições e três plantas por parcela.

Ao final do experimento as plantas foram colhidas para avaliação das seguintes variáveis: área radicular, número médio de raízes, diâmetro médio de raízes, comprimento de raízes, volume de raízes, massa seca do sistema radicular, altura de plantas e massa seca da parte aérea.

Área radicular: primeiramente foi realizada a lavagem das raízes em água corrente e destacada a parte aérea do sistema radicular. Em seguida foram fotografados o sistema radicular das três plantas da parcela experimental, para posterior determinação da área radicular com o auxílio do programa computacional para análise digital de imagens Delta-T ScanTM.

Número médio e diâmetro médio de raízes laterais: foram determinados com o auxílio do programa computacional para análise digital de imagens Delta-T ScanTM no sistema radicular das três plantas da parcela experimental.

Comprimento de raízes: foi obtido com o auxílio de uma régua, medindo-se o comprimento do início do desenvolvimento das raízes próximo ao colo da planta até o seu maior comprimento.

Volume do sistema radicular: o volume das raízes foi avaliado com auxílio de uma proveta graduada com capacidade para 100 ml. A proveta foi preenchida com um volume de 50 ml de água e, em seguida, foi adicionada à proveta as raízes das plantas de cada parcela experimental, medindo-se o volume de água deslocado em mm³.

Massa seca de raízes: o sistema radicular das plantas de cada parcela experimental foi devidamente acondicionado em sacos de papel e levados para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60°C por 72 horas. Logo após, foi determinada a massa seca com auxílio de uma balança analítica.

Altura das plantas: foi determinada medindo a distância entre o colo da planta até a extremidade da folha mais expandida, com auxílio de uma régua milimétrica.

Massa seca da parte aérea: a parte aérea das plantas de cada parcela experimental foi devidamente acondicionada em sacos de papel e levados para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60°C por 72 horas. Logo após, foi determinada a massa seca com auxílio de uma balança analítica.

Após a realização da análise de regressão das variáveis e obtenção da concentração de ácido húmico que desencadeou melhor resposta na planta um novo experimento foi montado utilizando a concentração ótima recomendada. Essa concentração foi obtida através das médias dos pontos de inflexão pela derivação das equações de regressão.

3.6 Experimento 3: Medida de acidez em solução possivelmente associada à atividade dos tratamentos sobre as H⁺-ATPases

O experimento foi conduzido no laboratório de Produção Vegetal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Campus Unaí. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro tratamentos e quatro repetições. Cada parcela experimental foi composta por um vaso do tipo Leonard com volume de dois litros, contendo duas plantas. Os tratamentos foram: T1: controle (sem o ácido húmico e sem o fungo); T2: somente o ácido húmico na concentração de 200 mg L⁻¹; T3: somente o fungo *Serendipita Indica*; T4: ácido húmico na concentração de 200 mg L⁻¹ e o fungo *Serendipita indica*.

Para a realização desse experimento, primeiramente foi feita a germinação das sementes do feijoeiro em caixa de areia contendo como substrato areia e vermiculita na proporção 1:1. Quatro dias após a germinação das sementes foi realizado o transplântio das plântulas para vasos do tipo Leonard, contendo como substrato areia e vermiculita na proporção 1:1. Para os tratamentos que receberam o fungo, esse foi aderido ao sistema radicular das plântulas no momento da realização do transplântio, sendo adicionados três discos fúngicos de 1 cm de diâmetro de forma equidistante em torno do sistema radicular de cada planta. Após o transplântio, as plântulas foram aclimatadas por 24 horas, período no qual receberam apenas água. Após a aclimação, foram adicionadas as soluções de CaCl₂ 2,0 mM ou CaCl₂ 2 mM + ácido húmico, na parte inferior do vaso Leonard (solução) de acordo com os tratamentos.

A estimativa da atividade da H⁺-ATPase foi avaliada pela medição da acidez em solução (SILVA *et al.*, 2015). As plantas foram submetidas aos tratamentos durante 18 dias e após esse período foram retiradas dos vasos Leonard, em água corrente e suas raízes lavadas até a retirada completa dos resíduos do substrato. Posteriormente as duas plantas de cada parcela experimental foram colocadas em beakers contendo 500 mL de solução de CaCl₂ 2mM a pH 7. Para realização dessa avaliação, foram feitas 7 medidas do pH da solução no tempo 0, 20, 40, 60, 80, 100 e 120 minutos, com auxílio de um pHmetro de bancada PHS-3E. Após a avaliação, as raízes de cada parcela foram separadas da parte aérea e colocadas para secar em estufa com

circulação forçada de ar na temperatura de 65°C até obtenção de peso constante. A quantidade de H^+ foi expressa em extrusão de H^+ por grama de massa seca de raiz.

3.7 Experimento 4: Influência do ácido húmico e do fungo *Serendipita indica* na taxa de colonização fúngica, fisiologia, crescimento, produtividade e acúmulo de nutrientes do feijoeiro

Esse experimento foi realizado em vasos na casa de vegetação localizada na Faculdade de ciências e tecnologia de Unaí (FACTU). A cultivar de feijão utilizada foi a TAA Dama. Esta cultivar apresenta ciclo de 85 a 95 dias, porte prostado e hábito de crescimento indeterminado tipo III (MAPA, 2022).

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados com quatro tratamentos e cinco repetições. Cada parcela experimental foi composta por um vaso de polipropileno com volume de oito litros, contendo duas plantas. Os tratamentos foram: T1: controle (sem o ácido húmico e sem o fungo); T2: somente o ácido húmico na concentração de 200 mg L⁻¹; T3: somente o fungo *Serendipita Indica*; T4: ácido húmico na concentração de 200 mg L⁻¹ mais o fungo *Serendipita indica*.

Para a realização desse experimento, primeiramente foi feita a germinação das sementes do feijoeiro em caixa de areia contendo como substrato areia e vermiculita na proporção 1:1. Quatro dias após a germinação das sementes foi realizado o transplântio das mudas para os vasos de polipropileno contendo o solo Latossolo Vermelho não autoclavado, para estudar o efeito dos tratamentos na condição natural de cultivo. Esse solo foi coletado na fazenda Santa Paula da UFVJM na profundidade de 0-20 cm e foi previamente adubado conforme a análise do solo (Tabela 2). A adubação de plantio constou de 280 mg de P₂O₅ e 160 mg de N por vaso, utilizando superfosfato simples como fonte de fósforo e sulfato de amônio como fonte nitrogenada. A adubação de cobertura foi realizada aos 28 dias após a emergência das plantas, sendo aplicado 240 mg de nitrogênio por vaso utilizando o sulfato de amônio como fonte de nitrogênio. Os cálculos de adubação do solo foram realizados considerando o volume de solo do vaso e relacionando com o volume de solo de 1 hectare, considerando a camada de 0-20 cm. O solo utilizado nesse experimento não foi autoclavado.

Tabela 2 - Resultado da análise química e física do solo utilizado no experimento.

Parâmetro	Resultado	Unidade
pH em água	5,77	-
Matéria Orgânica (MOS)	3,91	dag kg ⁻¹
Carbono Orgânico Total	2,26	dag kg ⁻¹
Potássio - K	348,18	mg dm ⁻³
Fósforo - P (Mehlich)	38,3	mg dm ⁻³
Enxofre - S	7,86	mg dm ⁻³
Cálcio - Ca ²⁺	4,55	cmolc dm ⁻³
Magnésio - Mg ²⁺	2,5	cmolc dm ⁻³
Alumínio - Al ³⁺	<0,1	cmolc dm ⁻³
Acidez potencial (H ⁺ Al)	1,82	cmolc dm ⁻³
Boro - B	0,48	mg dm ⁻³
Cobre - Cu	1,78	mg dm ⁻³
Ferro - Fe	71,36	mg dm ⁻³
Manganês - Mn	25,28	mg dm ⁻³
Zinco - Zn	5,64	mg dm ⁻³
Areia	19	%
Silte	47	%
Argila	34	%

Antes da realização do transplântio, todos os vasos contendo o solo foram umedecidos com água ou solução de ácido húmico, de acordo com o tratamento, com a quantidade determinada com base na capacidade de campo do solo. Para os tratamentos que receberam o fungo, esses foram aderidos ao sistema radicular do feijoeiro, no momento do transplântio, sendo adicionados três discos do fungo, de 1 cm de diâmetro, por planta. Para os tratamentos que receberam o ácido húmico, a aplicação desse foi realizada após o transplântio, no estágio fenológico V3 (Primeira folha trifoliolada) e no estágio R5 (surgimento dos primeiros botões florais), ou seja, em fases fisiológicas importantes da cultura do feijoeiro.

A irrigação foi realizada de acordo com a evapotranspiração da cultura por meio de microaspersores, mantendo a umidade do solo próxima a capacidade de campo. O controle de plantas daninhas foi realizado de forma manual sempre que necessário. Foi aplicado óleo de neem para controle de mosca branca e tripses, pragas identificadas durante o ciclo da cultura. Não foi necessária aplicação de produtos químicos para controle de doenças.

Aos 48 dias após a emergência foram realizadas as análises fisiológicas, no horário de 16:40 da tarde, utilizando o equipamento MultispeQ V 2 vinculado ao aplicativo PhotosynQ foi realizada a coleta dos dados em duas folhas por parcela experimental, sendo feita as medições em uma folha de cada planta. Para obtenção das leituras foi escolhida a folha localizada no terço médio da planta. As variáveis obtidas pelo equipamento foram eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Phi2), extinção de energia não fotoquímica (PhiNPQ), perda

de energia não regulada (PhiNO), fluxo linear de elétrons (LEF), condutividade de prótons da ATP sintase do cloroplasto (gH^+), taxa relativa de fluxo de prótons do estroma para o lúmen (vH^+), índice SPAD e sinal de deslocamento eletrocromico (ECS).

Aos 86 dias após a germinação das sementes as plantas estavam completamente secas, caracterizando o final de seu ciclo de cultivo, então foi realizada a colheita das vagens e a retirada das plantas do vaso para avaliação das seguintes variáveis: colonização fúngica das raízes, altura de plantas, comprimento de raiz, volume de raízes, massa fresca e massa seca de raízes e massa seca da parte aérea, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, massa de cem grãos e produção de grãos por parcela.

Colonização fúngica: primeiramente foi retirado, do sistema radicular de cada parcela, fragmentos de 1 cm da porção inicial, mediana e final das raízes. Esses fragmentos foram colocados em tubos falcon de 15 mL, contendo água e armazenados em geladeira para posterior análise. A colonização fúngica nos diferentes tratamentos foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Phillips e Hayman (1970), com adaptações, 81 dias após a inoculação. As amostras das raízes foram limpas e levadas em banho maria dentro de tubos Falcon preenchidos com solução de KOH 10% por 60 minutos. Após a clarificação das raízes, elas foram lavadas com água corrente e colocadas em outros tubos Falcon com azul de tripano 0,02% por 20 minutos, para coloração. Posteriormente o excesso de corante foi removido em lactoglicerol (composição 1:1:1 de ácido láctico, glicerina e água) uma hora antes da observação. Posteriormente, em cada tratamento foi realizado cortes aleatórios de quatro fragmentos de raiz de 1 cm de comprimento e colocados em lâminas para visualização em microscópio óptico de luz com aumento de 40 vezes. A colonização fúngica foi determinada pela presença de esporos dentro do córtex das raízes. O percentual de colonização foi determinado utilizando a seguinte fórmula: colonização de raiz (%) = [(número de segmentos colonizados/ número total de segmentos analisados) x 100].

Altura de plantas: A altura das plantas foi determinada com auxílio de uma trena, efetuando as medições a partir do colo da planta até o seu ápice.

Para avaliação das variáveis relacionadas ao sistema radicular do feijoeiro, primeiramente as raízes foram retiradas do vaso, com máxima preservação, utilizando jatos de água até o completo desprendimento da raiz com solo. Nesse processo, foram utilizadas duas peneiras abaixo do vaso para reter os possíveis fragmentos de raízes perdidos durante a lavagem.

Comprimento de raiz: Foi obtido o comprimento de raiz da parcela experimental, visto que as raízes estavam bastante entrelaçadas e o processo de separação poderia ocasionar

grandes perdas. Para isso, mediu-se com auxílio de uma trena, o comprimento do início do desenvolvimento das raízes próximo ao colo da planta até o seu maior comprimento.

Volume de raízes: A avaliação do volume de raízes por parcela foi determinada com auxílio de uma proveta de 250 mL. Para isso, primeiramente a proveta foi preenchida com água até a marcação de 100 mL, em seguida foi colocado o sistema radicular da parcela em seu interior e o volume de raízes foi obtido por meio do deslocamento de água na proveta.

Massa fresca de raízes: Foi obtida por meio de pesagem, com auxílio de uma balança analítica.

Massa seca de raízes e parte aérea: A parte aérea e o sistema radicular das plantas de cada parcela experimental foram devidamente acondicionados em sacos de papel e levados para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas. Logo após foi determinado massa seca com auxílio de uma balança analítica.

Número de vagens por planta: Determinado por meio da contagem da quantidade de vagens em cada planta.

Número de grãos por vagem: Determinado por meio da contagem da quantidade de grãos em cada vagem.

Massa de cem grãos: Determinada por meio da pesagem de 100 grãos de cada parcela experimental, corrigindo o valor de umidade para 13%.

Produção por parcela: Determinada por meio da pesagem de todos os grãos da parcela experimental, corrigindo o valor de umidade para 13%.

Após a secagem das raízes em estufa de circulação forçada de ar, o material obtido foi triturado no moinho de facas tipo cróton TE-625, utilizando uma peneira de 1mm de diâmetro, buscando assegurar a homogeneidade da amostra. Posteriormente, foram retirados 1,2g das raízes trituradas para avaliação do teor dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) e dos micronutrientes: ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), zinco (Zn) e boro (Bo).

As determinações analíticas foram realizadas na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), no departamento de ciência do solo, utilizando os respectivos métodos: digestão sulfúrica (N); digestão nitroperclórica (P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn) e incineração (B). A determinação do teor de cada nutriente foi realizada através de colorimetria (P, B); turbidimetria (S); fotometria de chama (K); espectrofotometria de absorção atômica (Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn) e Kjeldahl (N) (EMBRAPA, 2009).

3.8 Análise estatística

Os dados apresentados foram submetidos à análise de variância pelo teste F. Quando significativos, os efeitos das concentrações do ácido húmico no crescimento do fungo, crescimento inicial do feijoeiro e da influência do ácido húmico e do fungo *Serendipita indica* na H⁺-ATPase ao longo do período de avaliação foram comparados pela análise de regressão. O ajuste de regressão foi efetuado pelo coeficiente ajustado (R²), bem como com a explicação biológica. Os efeitos dos tratamentos contendo ácido húmico e o fungo *Serendipita indica* no crescimento, fisiologia e produtividade do feijoeiro foram comparados pelo teste de Tukey, a 5% de significância. As análises foram realizadas com o auxílio do software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2019).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do ácido húmico isodado de vermicomposto

O intuito dessa caracterização foi verificar se os ácidos húmicos de vermicomposto utilizados nessa dissertação possuíam características químicas semelhantes a de outros materiais húmicos descritos na literatura, onde, após um análise criteriosa da Tabela 3 foi possível constatar que o material utilizado possui similaridades químicas com outros vários encontrados em diferentes trabalhos (CANELLAS *et al.*, 2002, DOBBSS *et al.*, 2009, CANELLAS *et al.*, 2012, BARROSO *et al.*, 2019, ARAUJO *et al.*, 2021) podendo, portanto, ser utilizado incontestavelmente como bioestimulante vegetal.

Tabela 3. Composição elementar, relações atômicas, acidez carboxílicas (COOH), fenólica (OH Fenólico) e total, relação E₄/E₆ e índice de fluorescência (IF) dos ácidos húmicos de vermicomposto.

AH	C	H	N	O	C/N	H/C	O/C	COOH	OH Fenólico	Acidez Total	E ₄ /E ₆	IF
	%				Relações atômicas			cmol Kg ⁻¹		-	u.a	
	48,06	6,74	6,44	67,60	8,78	1,69	1,06	201,86	1318,10	1519,96	5,73	112,0
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	3,37	0,75	0,54	3,87	1,16	0,21	0,12	19,87	169,55	188,75	0,41	4,14

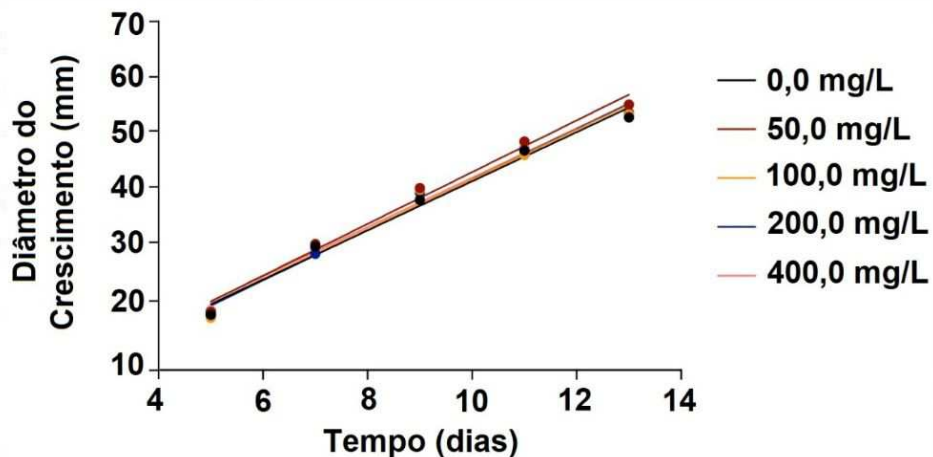
u.a = unidades arbitrárias

valores representam as médias (quatro repetições para cada análise) mais ou menos os seus desvios padrões.

4.2 Ensaio preliminar de concentrações de ácidos húmicos sobre o crescimento fúngico

Todos os tratamentos testados apresentaram comportamento semelhante, para o crescimento do micélio, sendo observado aumento gradativo do diâmetro do micélio fúngico ao longo do tempo de incubação (Figura 1).

Figura 1 - Crescimento médio do fungo *Serendipita indica* em placas de petri contendo meio Kaefer modificado e diferentes concentrações de ácido húmico.



Nenhuma das concentrações de ácido húmico utilizadas nesse trabalho restringiram o crescimento fúngico, indicando, portanto, a possibilidade do uso do ácido húmico juntamente com o fungo *Serendipita indica* em quaisquer concentrações de ácido húmico testadas.

Vários estudos descritos na literatura confirmaram que os ácidos húmicos podem promover alterações na comunidade microbiana do solo, demonstrando que o ácido húmico pode exercer influência na colonização do fungo *Serendipita indica* o que pode favorecer a promoção do crescimento das plantas. Gryndler *et al.* (2005) avaliando o efeito do ácido húmico sobre o fungo micorrízico arbuscular *Glomus claroideum* BEG 23, identificaram que as plantas tratadas com esse bioestimulante apresentaram aumento significativo no comprimento do micélio extrarradical e estímulo da colonização micorrízica. Li *et al.* (2019) constataram alterações na estrutura da comunidade microbiana do solo após tratamento com ácido húmico, aumentando a abundância de microrganismos benéficos, como fungos pertencentes ao filo Basidiomycota, e reduzindo a de microrganismos patogênicos.

4.3 Influência de diferentes concentrações dos ácidos húmicos no crescimento inicial do feijoeiro

Analisando os resultados da análise de variância para o crescimento inicial do feijão-comum sob concentrações de ácido húmico (Tabela 4) constata-se que as concentrações de ácido húmico influenciaram apenas no crescimento radicular do feijoeiro, sendo observado diferença significativa para todas as variáveis avaliadas. Para o crescimento da parte aérea não foi observado diferença significativa para altura de plantas e massa seca da parte aérea. Esses resultados demonstram que o efeito inicial do ácido húmico ocorre principalmente no sistema radicular das plantas, conforme também pode ser observado na Figura 2.

Tabela 4. Análise de variância para as variáveis área radicular (AR), número médio de raízes (NR), diâmetro médio de raízes (DR), comprimento de raízes (CR), volume de raízes (VR), massa seca de raízes (MSR), altura de plantas (ALT) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de feijão-comum submetidas a diferentes concentrações de ácido húmico.

FV	GL	Quadrado médio							
		AR	NR	DR	CR	VR	MSR	ALT	MSPA
Concentrações	5	511,8**	959,4**	0,0019**	47462,8**	6,5**	0,006*	4,1 ^{ns}	0,011 ^{ns}
Blocos	3	22,8**	51,3**	0,00018**	3381,2*	0,8*	0,009*	13,3*	0,056 ^{ns}
Resíduo	15	1,2	2,5	0,00002	863,7	0,2	0,002	4,0	0,022
CV (%)		0,92	1,71	0,84	3,15	13,16	16,55	7,23	19,58

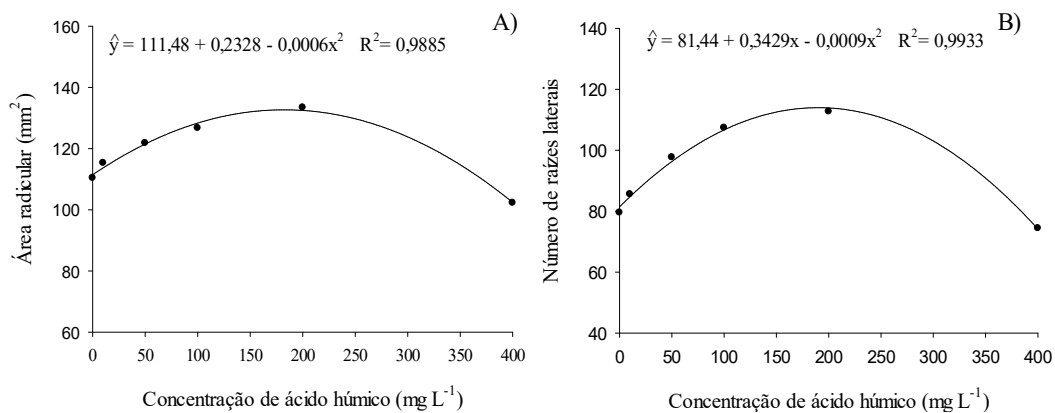
^{ns} Significativo, * significativo a 5% e ** significativo a 1% de significância pelo teste F.

Figura 2 - Sistema radicular de plantas de feijoeiro submetido a diferentes concentrações de ácido húmico. Unaí-MG, 2022.



Ao analisar os dados apresentados nas figuras 3A e 3B constata-se que as diferentes concentrações de ácido húmico influenciaram a área radicular e o número de raízes laterais do feijoeiro. Houve um aumento crescente nos valores das variáveis estudadas até a concentração de ácido húmico de 200 mg L⁻¹, representando um incremento de 20,85% na área radicular e 41,70% no número de raízes laterais em comparação com a testemunha. A partir dessa concentração foi observado um decréscimo na área radicular e número de raízes laterais da planta.

Figura 3 - Área radicular (A) e número médio de raízes laterais (B) de feijoeiro submetido a diferentes concentrações de ácido húmico. Unaí-MG, 2022.



O aumento gradativo do número de raízes laterais das plantas tratadas com concentrações de ácido húmico de até 200 mg L⁻¹ (Figura 3B), pode ser justificado pela semelhança que esse bioestimulante possui com as auxinas. Os ácidos húmicos podem possuir ação tipo auxínica atuando diretamente como hormônio, ou podem estimular a síntese de hormônios endógenos ou de vias de sinalização hormonal (ZANDONADI *et al.*, 2010; ZANDONADI *et al.*, 2014). De acordo com Casimiro *et al.* (2001); Canellas e Olivares (2014) o fitormônio auxina é considerado um dos principais compostos morfogênicos das plantas e a ação desse hormônio pode induzir a formação de raízes laterais, ativando grupos de células do periciclo e estabelecendo sítios mitóticos da raiz lateral.

Dobbss *et al.* (2007) estudando a atividade biológica do ácido húmico no mutante diageotrópica (dgt) de uma miniatura de tomate menos sensível a auxina, cultivar [micro-tom (MT)], observou que o ácido húmico não estimulou o desenvolvimento de raízes laterais, confirmando a atividade tipo auxínica dos ácidos húmicos e sugerindo que os ácidos húmicos precisam da via de transdução de sinalização da auxina.

As auxinas além de promoverem aumento no número de raízes laterais, exercem influência no crescimento das plantas pelo aumento da expressão da H⁺-ATPase da membrana plasmática. Essa enzima realiza o transporte ativo de prótons para o meio extracelular, ocasionando uma redução do pH apoplástico que permite a ativação de enzimas relacionadas com a expansão celular (FAÇANHA *et al.*, 2002), sendo assim firmada a teoria de crescimento ácido.

Canellas *et al.* (2002) investigando o desenvolvimento inicial das raízes laterais e a atividade da H⁺-ATPase em plântulas de milho tratadas com diferentes concentrações de ácido húmico, isolado de vermicomposto de esterco de minhoca, observou que as plântulas tratadas por sete dias com ácido húmico apresentaram maior número de sítios de emergência de raízes laterais e comprimento radicular total, resultando em maior área radicular, sendo também constatado aumento da expressão da H⁺-ATPase da membrana plasmática.

A bioatividade do ácido húmico pode não estar relacionada apenas com a presença de auxinas na sua estrutura supramolecular. Zandonadi *et al.* (2007) avaliando mudas de milho submetidas a diferentes fontes de ácido húmico ou ácido indolacético (AIA) em diferentes concentrações verificaram que tanto as fontes de ácido húmico como as concentrações de AIA aumentam a atividade da H⁺-ATPase e a proliferação de raízes laterais. Contudo, as fontes de ácido húmico induziram cerca de 50% mais sítios mitóticos, maior massa fresca de raízes e maior área radicular que a concentração mais eficaz de AIA. Assim, mesmo que os ácidos húmicos apresentem atividade biológica semelhante à das auxinas, pode haver em sua complexa estrutura outras moléculas bioativas que induzem a atividade da H⁺-ATPase e auxiliam no crescimento radicular (CANELLAS *et al.*, 2002; ZANDONADI *et al.*, 2007), como por exemplo as alcaloides (ZANDONADI *et al.*, 2019).

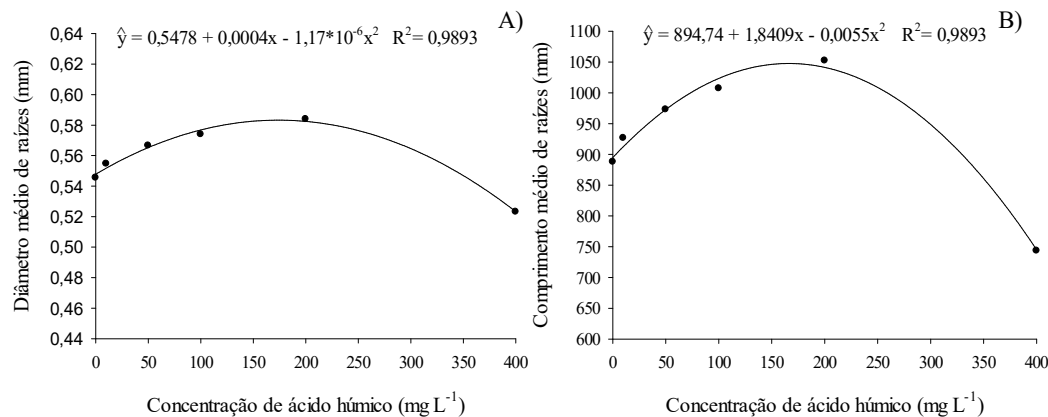
Os efeitos das auxinas no desenvolvimento radicular das plantas variam conforme as concentrações aplicadas. Baixas concentrações de auxinas (10⁻¹⁰ a 10⁻⁹ M) estimulam o crescimento da raiz primária, enquanto concentrações mais elevadas (10⁻⁸ a 10⁻⁶ M) estimulam a emergência das raízes laterais e pelos radiculares, inibindo o crescimento da raiz primária (ZANDONADI *et al.*, 2007). Pinheiro *et al.* (2010) relataram que baixas concentrações de AH aumenta o número de raízes laterais, proporcionando elevada área radicular podendo contribuir para uma maior absorção de nutrientes.

Uma das principais diferenças entre o modo de ação das auxinas e das substâncias húmicas é que as auxinas estimulam o desenvolvimento das raízes laterais em concentrações que tem efeito inibitório no crescimento da raiz primária. Já os ácidos húmicos induzem a

emergência das raízes laterais em concentrações que aumentam o crescimento das raízes primárias (VAUGHAN e MALCOLM, 1985).

Os resultados para as variáveis diâmetro médio de raízes e comprimento médio de raízes estão apresentados na Figura 4. O maior valor para as variáveis foi obtido na concentração de ácido húmico 200 mg L⁻¹. Após essa concentração houve redução acentuada no valor das variáveis. A concentração de 400 mg L⁻¹ foi a que apresentou menor diâmetro e comprimento médio de raízes, se comparado a todos os tratamentos.

Figura 4 – Diâmetro médio de raízes (A) e comprimento médio de raízes (B) de feijoeiro submetido a diferentes concentrações de ácido húmico. Unaí-MG, 2022.



O aumento crescente do diâmetro médio de raízes até a concentração de 200 mg L⁻¹ de ácido húmico observado neste trabalho, diverge de alguns resultados de pesquisa encontrados na literatura. Tavares *et al.* (2020) avaliando alterações morfológicas no sistema radicular do arroz ao longo do tempo em resposta a aplicação de ácido húmico, isolado de vermicomposto, constatou que a aplicação crescente de ácido húmico até a concentração de 150 mg L⁻¹ estimulou o número e o comprimento das raízes laterais superfinais, reduzindo consequentemente o diâmetro médio das raízes. Entretanto, no presente trabalho a redução do diâmetro médio das raízes foi observado com concentrações de ácido húmico maiores que 200 mg L⁻¹, sugerindo assim que concentrações inferiores a esse valor induziu a emergência das raízes laterais do feijoeiro bem como seu crescimento, sem reduzir o seu diâmetro.

Esses diferentes efeitos mediados pelo fornecimento do ácido húmico no desenvolvimento radicular podem estar relacionados com as diferentes características estruturais dos ácidos húmicos (OLAETXEA *et al.*, 2018) bem como sua hidrofobicidade, uma vez que os domínios hidrofóbicos dos ácidos húmicos podem aprisionar moléculas bioativas

como as auxinas que são liberadas na presença de ácidos orgânicos simples, exsudados do sistema radicular das plantas. Assim, além da hidrofobicidade a atividade biológica do material húmico depende de sua conformação suficientemente lábil para liberar as moléculas bioativas (DOBBSS *et al.*, 2010). Portanto torna-se difícil a comparação dos resultados de pesquisa, uma vez que a bioatividade do ácido húmico é dependente de uma série de fatores, dentre eles a fonte utilizada, método de extração, composição química, espécies de plantas, concentrações testadas e até mesmo a forma de aplicação.

Entretanto, Conselvan *et al.* (2017) avaliando os efeitos da aplicação de substâncias húmicas, isoladas de Leonardita, na cultura do milho verificaram que as plantas tratadas apresentaram incremento no diâmetro radicular. De acordo com os autores, as substâncias húmicas induziram a diferenciação das células do cilindro central da raiz, sendo o aumento do diâmetro radicular decorrente da maior deposição de lignina na parede celular das plantas tratadas com substância húmica (NARDI *et al.*, 2000).

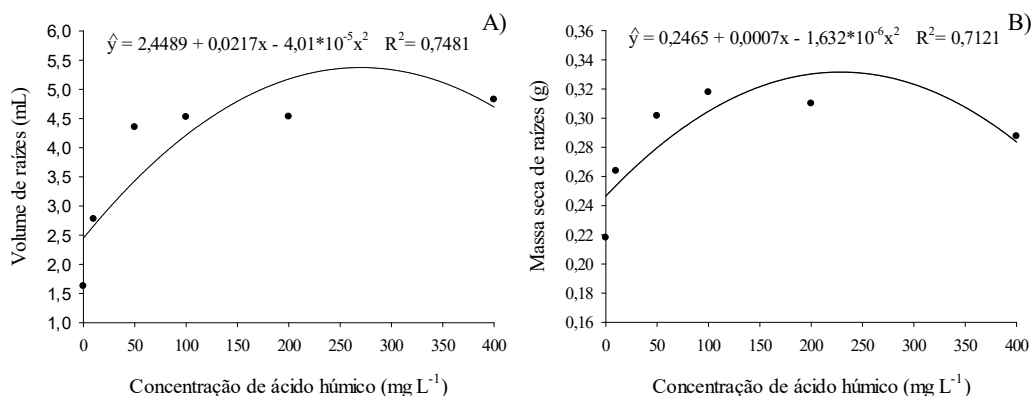
O aumento crescente do comprimento médio de raízes até a concentração de ácido húmico de 200 mg L⁻¹, bem como sua redução a partir dessa concentração, conforme apresentados na figura 4B são semelhantes aos efeitos da auxina postulada na teoria do crescimento ácido na qual elevadas concentrações de AIA inibem o crescimento das raízes (ZANDONADI *et al.*, 2013), assim o desenvolvimento radicular geralmente é obtido em baixas concentrações de material húmico. Muscolo e Sidari (2009), estudando a atividade biológica do ácido húmico, nas concentrações de 1 e 5 mg de C L⁻¹, no crescimento de calo em *Pinus nigra*, verificou que a maior concentração testada causou estresse oxidativo no calo, sendo observado pelo aumento do teor de H₂O₂ e de enzimas oxidativas.

Analisando os resultados apresentados na Figura 5 observa-se que houve um incremento no volume de raízes, estimada pela equação de regressão, até a concentração de ácido húmico de 270,6 mg L⁻¹. Para a variável massa seca de raízes constata-se incremento até a concentração de 214,5 mg L⁻¹. Baldotto e Baldotto (2016) avaliando o desempenho inicial do milho em resposta ao tratamento das sementes com ácidos húmicos isolados de bokashi observaram incremento na massa seca de raízes até a concentração de 40 mmol L⁻¹ do ácido húmico. Lüdtke *et al.* (2021) também relatam aumento na massa seca das raízes de plantas de alface com o tratamento com ácido húmico aos 35 e 48 dias após o transplântio.

O maior volume e massa seca de raízes está diretamente relacionado com o aumento do número médio de raízes laterais, comprimento e diâmetro de raízes proporcionado pela aplicação do ácido húmico. O maior volume radicular é de grande importância para aumentar

a absorção de água e nutrientes pelas raízes das plantas pois, de acordo com Borcioni *et al.* (2016), essa variável apresenta relação direta com o volume de solo explorado pelas raízes.

Figura 5 - Volume de raízes (A) e massa seca de raízes (B) de feijoeiro submetido a diferentes concentrações de ácido húmico. Unai-MG, 2022.



Através dos resultados apresentados na Tabela 5 pode-se verificar que a concentração média de ácido húmico que desencadeou melhor resposta no crescimento inicial do feijoeiro foi de 201,3 mg L⁻¹.

Tabela 5 - Modelo de concentração resposta para plantas de feijão após 10 dias em tratamento com ácido húmico oriundos de vermicompostagem.

Características	Equação: ($y = b_2x^2 + b_1x + b_0$)	R ²	p	Concentração ótima (mg L ⁻¹)
AR	$y = -0,0006x^2 + 0,2328x + 111,48$	0,988	<0,0001	194,0
NRL	$y = -0,0009x^2 + 0,3429x + 81,44$	0,993	<0,0001	190,5
DR	$y = -1,17E^{-06}x^2 + 0,0004x + 0,5478$	0,989	<0,0001	170,9
CR	$y = -0,0055x^2 + 1,8409x + 894,74$	0,989	<0,0001	167,4
VR	$y = -4,01E^{-05}x^2 + 0,0217x + 2,4489$	0,748	<0,0001	270,6
MSR	$y = -1,632E^{-06}x^2 + 0,0007 + 0,2465$	0,712	<0,0001	214,5
Média				201,3

AR: área radicular; NRL: número de raízes laterais; DR: diâmetro médio de raízes; CR: comprimento médio de raízes; VR: volume de raízes; MS: massa seca de raízes.

Para facilitar a indicação e cálculos foi adotada a concentração de 200 mg L⁻¹ como ideal. Silva *et al.* (2011) obteve a concentração de 160 mg L⁻¹ como a ideal para o crescimento radicular do *Solanum lycopersicum* L. após o tratamento com soluções de ácido húmico. Ainda, segundo os autores, o aumento no crescimento das raízes é um dos principais efeitos

fisiológicos das substâncias húmicas e depende da espécie, idade das plantas, bem como da fonte e concentração utilizada.

4.4 Medida da acidez em solução

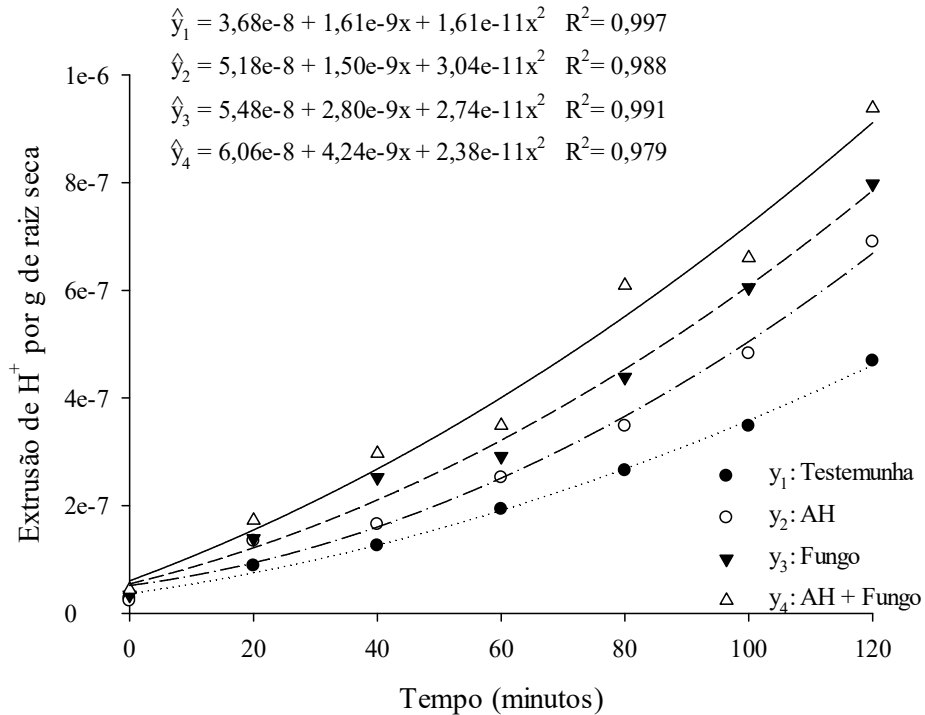
Os mecanismos pelos quais os ácidos húmicos afetam a fisiologia das plantas ainda são pouco compreendidos. Entretanto, a atividade da H⁺-ATPase da membrana plasmática é considerada um indicador fisiológico útil da bioatividade dos ácidos húmicos (AGUIAR *et al.*, 2013), já que os ácidos húmicos são dotados de atividade hormonal e podem alterar o gradiente eletroquímico de prótons da membrana plasmática por meio da modulação das bombas de prótons (ZANDONADI *et al.*, 2016), que pode ser estimada indiretamente pela medida das acidez de soluções após exposição das plantas aos diferentes tratamentos por um período de tempo determinado. No caso dessa dissertação as plantas foram submetidas aos tratamentos por 18 dias, já que para verificar apenas o efeito dos tratamentos na extrusão de prótons foi utilizado um meio mínimo de CaCl₂ 2mM para nutrição das plantas permitindo a sobrevivência das mesmas por um período limitado.

Todos tratamentos apresentaram aumento crescente na extrusão de prótons ao longo dos 120 minutos de avaliação. As plantas tratadas com ácido húmico, fungo e ácido húmico + fungo apresentaram maior extrusão de prótons em comparação com a testemunha, sendo o maior valor observado no tratamento ácido húmico + fungo (Figura 6).

De acordo com Aguiar *et al.* (2013) a estimativa da atividade da enzima H⁺-ATPase por meio da medida da acidez em solução é um método simples que pode ser utilizado para verificação da bioatividade das substâncias húmicas, apesar da acidez resultante das plantas tratadas com os diferentes materiais húmicos não ser exclusivamente devido aos estímulos das bombas de prótons, pois pode estar relacionada a produção de CO₂ pela respiração celular.

O aumento do teor de auxina decorrente do fungo *Serendipita indica* estimula as vias de sinalização de auxinas (CHENG *et al.*, 2022) e ativa genes de resposta a auxina envolvidos na regulação do crescimento, como os genes para bombas de prótons (DONG *et al.*, 2013). Sendo assim, a extrusão de prótons obtida nas plantas tratadas com o fungo pode ter sofrido influência da ativação da H⁺-ATPase da membrana plasmática, mediante aumento do teor de auxina nas raízes.

Figura 6 – Extrusão de prótons de raízes de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo *Serendipita indica*.



A maior extrusão de prótons obtida no tratamento ácido húmico + fungo pode indicar efeito sinérgico da utilização dos dois bioestimulantes, já que apresentou valor superior ao efeito isolado tanto do fungo quanto do ácido húmico. Entretanto, é necessário a realização de novos testes para verificar se a enzima H⁺-ATPase foi responsável pela maior extrusão de prótons encontrada no tratamento ácido húmico + fungo, já que a extrusão de prótons pode ser desencadeada por outros fatores.

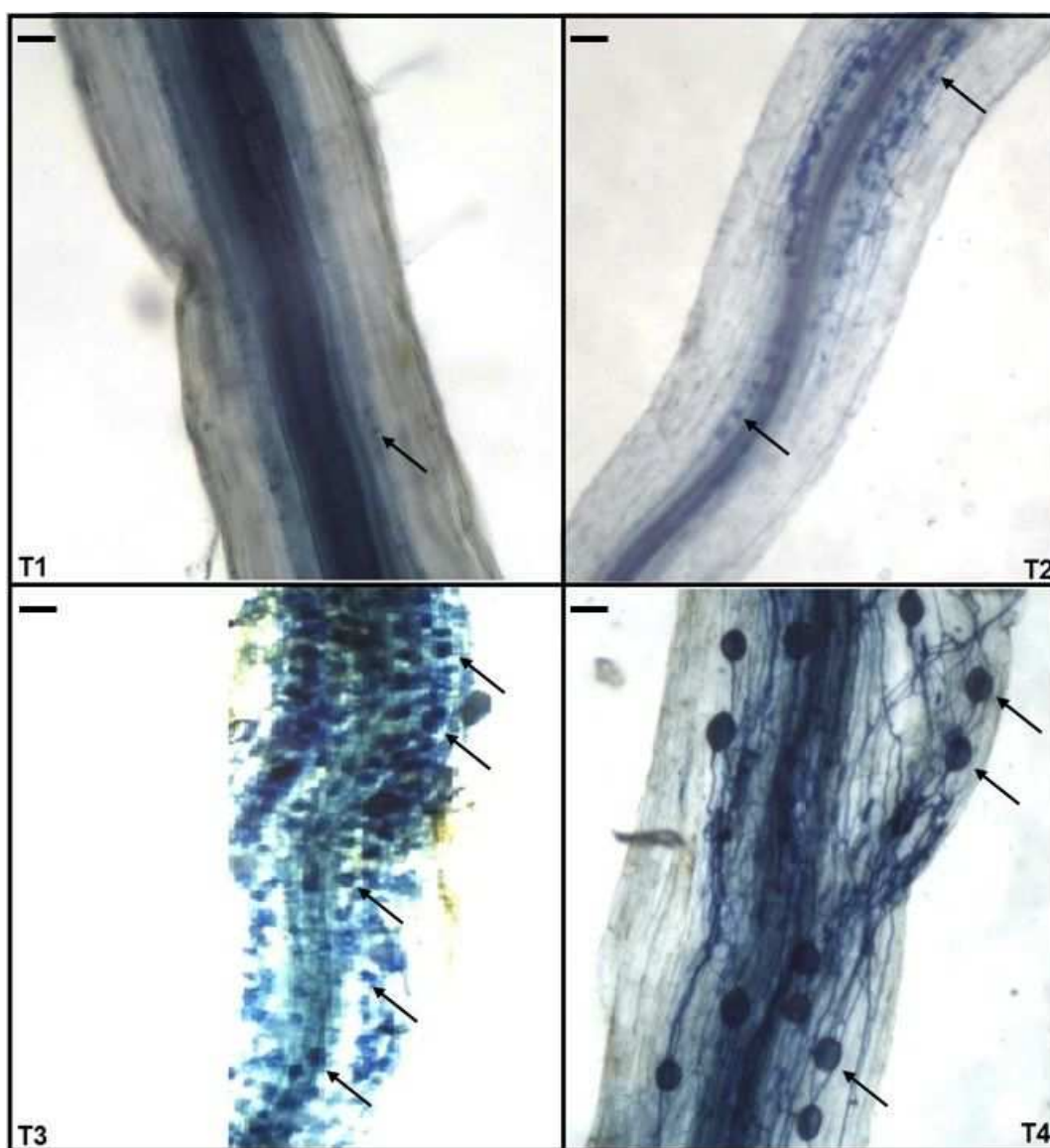
4.5 Influência do ácido húmico e do fungo *Serendipita indica* na taxa de colonização fúngica, fisiologia, morfologia, características produtivas e acúmulo de nutrientes do feijoeiro

4.5.1 Taxa de colonização fúngica

O fungo *Serendipita indica* é capaz de realizar simbiose com uma ampla gama de hospedeiros e, de acordo com a Figura 7 também pode ter contribuído para colonização microbiana observada no sistema radicular do feijoeiro. Entretanto, a colonização foi afetada

pelos tratamentos testados, sendo as maiores porcentagens de colonização obtida nos tratamentos fungo (85%), ácido húmico + fungo (65%), ácido húmico (45%) e testemunha (25%).

Figura 7 - Micrografia representativa da colonização fúngica nas raízes de feijão nos seguintes tratamentos: testemunha (T1), ácido húmico (T2), fungo *Serendipita indica* (T3) e ácido húmico + fungo *Serendipita indica* (T4). Raízes colonizadas (setas pretas). As barras nas partes superiores das imagens de cada tratamento representam 20 μ M.



A colonização fungica foi observada em todos os tratamentos, mesmo nas plantas não inoculadas com o fungo *Serendipita indica*, indicando que o sistema radicular do feijoeiro

foi colonizado por outros microrganismos nativos presentes no solo, que não foi autoclavado. Entretanto, a maior porcentagem de colonização no tratamento fungo seguido do tratamento ácido húmico + fungo sugere que os tratamentos que receberam a inoculação com o fungo *Serendipita indica* apresentaram maior colonização microbiana.

Segundo Maji *et al.* (2017) a adição de material orgânico no solo pode favorecer diferentes comunidades de microrganismos benéficos. Eshghi e Garazhian (2015) identificaram aumento na densidade de microrganismos benéficos na presença de ácido húmico, demonstrando a importância desse bioestimulante para comunidade microbiana do solo. Entretanto, no presente trabalho a redução da colonização microbiana no tratamento ácido húmico + fungo se comparado ao tratamento fungo indica que o ácido húmico de alguma maneira interferiu negativamente na colonização fúngica. Resultados opostos foram encontrados por Pinos *et al.* (2019) que, estudando os efeitos da associação de substâncias húmicas, extraídas de vermicomposto, com o fungo micorrízico arbuscular *Dentisculata heterogama* no crescimento do milho, observaram estímulo da colonização micorrízica nas plantas tratadas com substâncias húmicas, resultando no aumento da absorção de nutrientes e produção de massa seca das plantas.

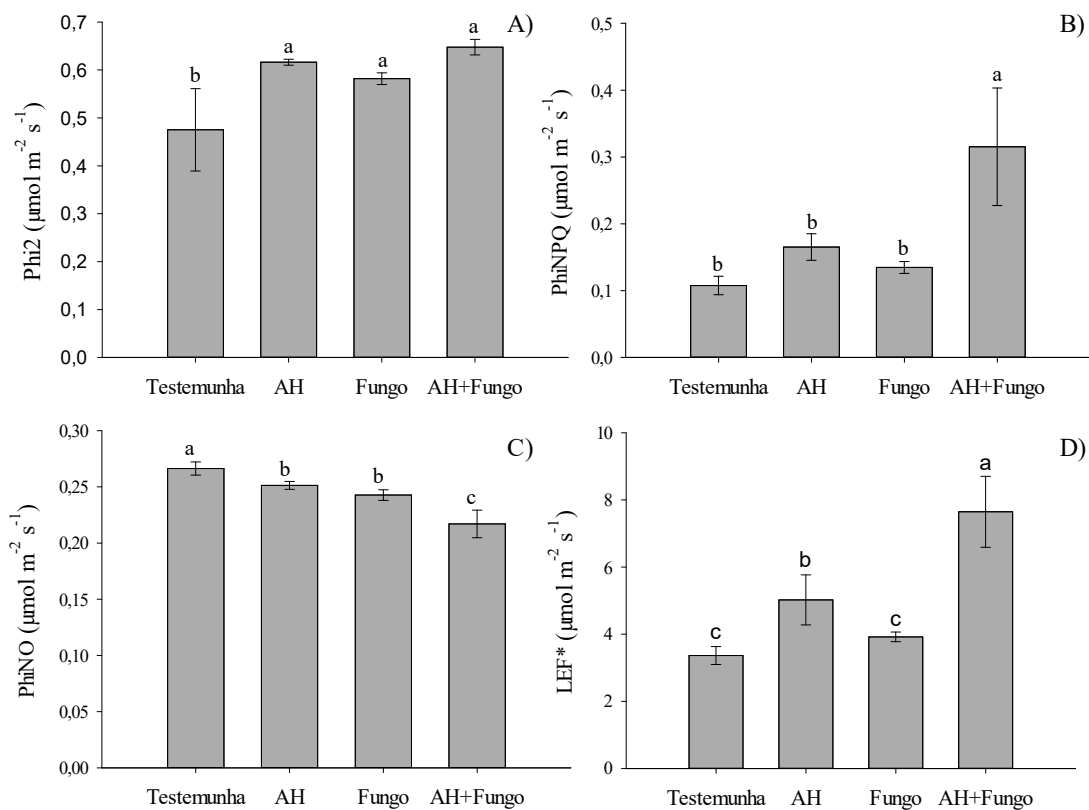
Quando foi realizada a inoculação do fungo *Serendipita indica* nas plantas o efeito negativo do ácido húmico na colonização microbiana radicular foi minimizado, já que o tratamento ácido húmico + fungo apresentou porcentagem de colonização superior ao tratamento com apenas ácido húmico. Desta maneira a inoculação foi importante no processo de colonização fúngica resultando na maior eficiência de colonização.

A maior porcentagem de colonização fúngica encontrada no tratamento fungo, proporcionou maior comprimento de raízes (Tabela 6), contudo não incrementou as características produtivas do feijoeiro, número de vagens por planta (NVP), número de grãos por vagem (NGV), massa de cem grãos (MCG) e produtividade de grãos por parcela (PROD) (Tabela 7). Quando o fungo foi inoculado em conjunto com o ácido húmico foi observado melhoria nas características fisiológicas eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Φ_2), extinção de energia não fotoquímica (Φ_{NPQ}), fluxo linear de elétrons (LEF) (Figura 8), condutividade de prótons da ATP sintase do cloroplasto (gH^+), taxa relativa de fluxo de prótons do estroma para o lúmen (vH^+), índice SPAD e sinal de deslocamento electrocrômico (ECS) (Figura 9), sugerindo que o ácido húmico teve efeito sinérgico com o fungo *Serendipita indica* nas características fisiológicas analisadas, apesar de reduzir a colonização fúngica.

4.5.2 Fisiologia

Na Figura 8 estão apresentados os valores da energia luminosa destinada a etapa fotoquímica da fotossíntese, energia dissipada na forma de calor e energia reemitida na forma de fluorescência, perda de energia não regulada e do fluxo linear de elétrons. Para a variável eficiência quântica do fotossistema (Phi2) (Figura 8A) observa-se que todos os tratamentos testados apresentaram diferença significativa em relação a testemunha. Entretanto, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos ácido húmico, fungo e ácido húmico + fungo. Sendo assim, em média os tratamentos aplicados melhoraram a eficiência quântica efetiva do fotossistema II em 22,8% em relação a testemunha.

Figura 8 - (A) eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Phi2), (B) extinção de energia não fotoquímica (PhiNPQ), (C) perda de energia não regulada (PhiNO) e (D) fluxo linear de elétrons (LEF) de plantas de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo *Serendipita indica*.



(*) Médias transformadas por meio da fórmula Raiz quadrada – SQRT.

Para a variável de fluorescência PhiNPQ (Figura 8B), observa-se que o tratamento ácido húmico + fungo apresentou maior valor diferindo significativamente dos demais tratamentos. A extinção não fotoquímica (NPQ) é um mecanismo de proteção que as plantas utilizam para a dissipação do excesso de energia luminosa (HAZRATI *et al.*, 2016). Há uma relação inversa entre PhiNPQ e Phi2 (FAN *et al.*, 2014; SHEN *et al.*, 2020) já que a extinção não fotoquímica diminui a transferência de energia para o fotossistema II, reduzindo assim sua eficiência e conseqüentemente a quantidade de ATP e NADPH produzidos para assimilação de carbono no ciclo de Calvin. Entretanto, o aumento de PhiNPQ no tratamento ácido húmico + fungo pode indicar maior capacidade para reações fotoprotetoras podendo reduzir os danos do aparato fotossintético.

Quando a clorofila absorve um fóton de comprimento de onda curto, mais energético, ela entra em um estado de alta excitação. Nesse estado a clorofila é bastante instável, assim para permanecer estável e voltar para um estado de menor excitação ela libera parte de sua energia na forma de calor (TAIZ *et al.*, 2017). Assim, a fotoinibição nem sempre deve ser vista como um dano, pois ela pode funcionar como um mecanismo de proteção, reduzindo a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), associada a absorção excessiva de luz pelos pigmentos fotossintéticos (TAKAHASHI e BADGER, 2011).

A maior perda de energia não regulada (PhiNO) foi observada na testemunha e a menor no tratamento ácido húmico + fungo (Figura 8C). O aumento de PhiNO na testemunha ocorreu em decorrência da redução da eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Phi2) e da extinção não fotoquímica (PhiNPQ). Já, no tratamento ácido húmico + fungo observa-se que uma maior fração de energia luminosa absorvida foi direcionada para a etapa fotoquímica (Phi2) havendo aumento concomitante do mecanismo fotoprotetor da extinção não fotoquímica (PhiNPQ) da fotossíntese, causando assim uma redução na perda de energia não regulada (PhiNO). Valores mais altos de PhiNO sugerem que os mecanismos fotoquímicos e reguladores de proteção não são eficientes, podendo levar a superprodução de oxigênio singlete (1O_2) reativo causando fotodano no fotossistema II (GAWRÓŃSKI *et al.*, 2014). O oxigênio singlete é uma espécie reativa de oxigênio formada principalmente nos centros de reação do fotossistema II e é citotóxico para as plantas, uma vez que sua produção excessiva pode ocasionar danos oxidativos a vários componentes celulares como lipídios, proteínas e ácidos nucléicos, levando a fotoinibição da fotossíntese e morte celular (DMITRIEVA *et al.*, 2020).

O maior fluxo linear de elétrons (LEF) foi encontrado no tratamento ácido húmico + fungo e os menores no tratamento fungo e na testemunha (Figura 8D). O gradiente de prótons através da membrana do tilacóide é gerado pelo fluxo de elétrons fotossintéticos (SATO *et al.*,

2014). No LEF, os elétrons da água são transferidos para o NADP^+ reduzindo-o a NADPH. Esta transferência de elétrons gera uma força motriz de prótons através da membrana do tilacóide que é usada pela ATP sintase $\text{CF}_1\text{-F}_0$ para formação do ATP, então o ATP e NADPH fotoproduzidos são utilizados para a fixação de CO_2 pelo ciclo de Calvin (NAWROCKI *et al.*, 2019).

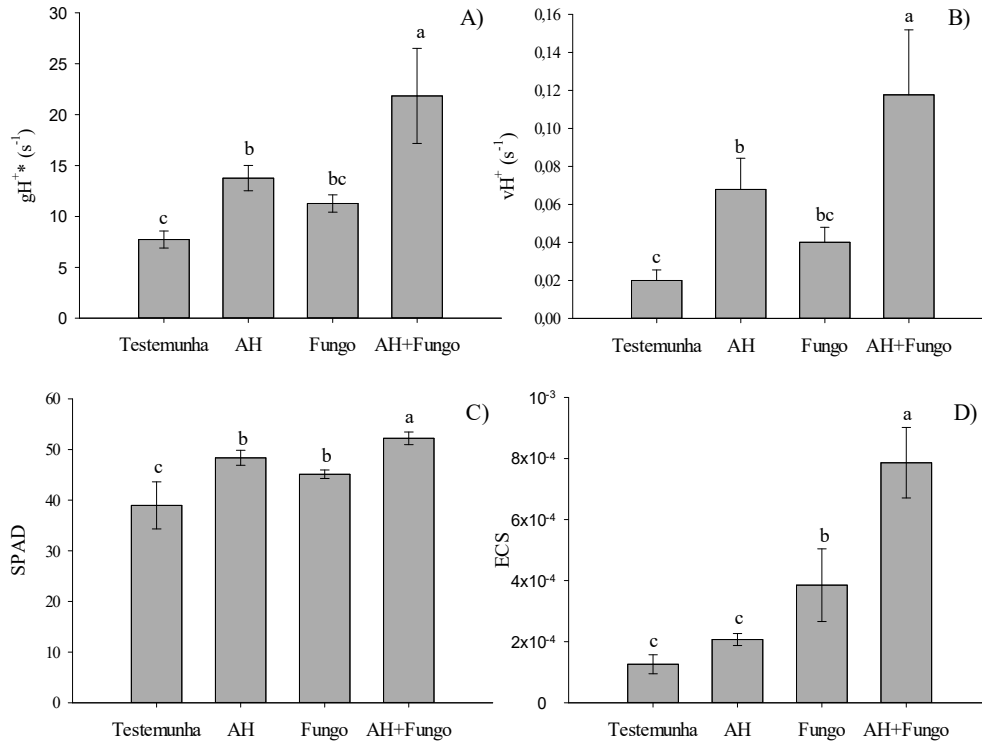
O LEF é regulado negativamente pela acidificação luminal decorrente do gradiente de prótons. Quando há redução do pH luminal, o fluxo de elétrons é reduzido, como mecanismo de fotoproteção do fotossistema I, a fim de mantê-lo oxidado e a extinção não fotoquímica (NPQ) é ativada para dissipar o excesso de energia absorvida pela clorofila no fotossistema II. Quando o fotossistema I encontra-se totalmente reduzido ele torna-se suscetível a fotoinibição e a produção de espécies reativas de oxigênio, podendo assim suprimir a produção de energia (ATP) de reparo para o fotossistema II em condição de fotodano (LU *et al.*, 2020).

Neste trabalho, o tratamento que obteve maior LEF também apresentou maior NPQ. Esses resultados podem indicar que o tratamento ácido húmico + fungo teve um sistema de fotoproteção do fotossistema I mais eficiente, mantendo assim maior integridade do aparato fotossintético. Já, os tratamentos fungo e testemunha apresentaram menor LEF e menor NPQ, podendo indicar que esses tratamentos não tiveram acidificação luminal suficiente para ativar a extinção não fotoquímica, assim pode ter ocorrido maiores danos ao fotossistema, decorrentes do acúmulo excessivo de energia de excitação.

Para a variável condutividade de prótons da ATP sintase do cloroplasto (gH^+) obteve-se que o tratamento ácido húmico + fungo apresentou maior valor quando comparado aos outros tratamentos testados (Figura 9A). O gH^+ reflete o efluxo de prótons via complexo ATP sintase e é muito importante para regulação do gradiente de prótons luminal e consequentemente do acionamento dos mecanismos de fotoproteção das plantas. A diminuição da atividade da ATP sintase do cloroplasto pode induzir a superacidificação do lúmen dos tilacóides e restringir a transferência de elétrons do fotossistema II para o fotossistema I, comprometendo a assimilação de carbono e o crescimento das plantas. Já, o aumento excessivo da atividade da ATP sintase do cloroplasto pode ocasionar redução do gradiente de prótons e causar fotoinibição do fotossistema I (TAKAGI *et al.*, 2017).

O alto valor de gH^+ no tratamento ácido húmico + fungo veio acompanhado de um gradiente de prótons suficiente para acionar a extinção não fotoquímica da fotossíntese, conforme observado na figura (8B) e evitar a fotoinibição. Esse aumento no valor do gH^+ pode ter sido decorrente do maior fluxo linear de elétrons observado nesse tratamento.

Figura 9 - (A) Condutividade de prótons da ATP sintase do cloroplasto (gH^+), (B) Taxa relativa de fluxo de prótons do estroma para o lúmen (vH^+), (C) Índice SPAD e (D) Sinal de deslocamento electrocrômico (ECS) de plantas de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo *Serendipita indica*.



(*) Médias transformadas por meio da fórmula Raiz quadrada – SQRT.

De acordo com Yang *et al.* (2020) o maior valor de gH^+ eleva a síntese de ATP e a relação ATP/NADPH, favorecendo o LEF pelo aumento da disponibilidade de $NADP^+$. Entretanto, quando o gH^+ é mantido em um nível mais baixo, a síntese de ATP e a proporção ATP/NADPH é reduzida, limitando a assimilação de carbono da planta pela falta de ATP. Com a diminuição da taxa de produção do ATP, o ATP passa a ser consumido a uma taxa maior que o NADPH, limitando rapidamente o fluxo linear de elétrons pela falta de $NADP^+$. Assim, o menor fluxo linear de elétrons observado nos tratamentos testemunha, ácido húmico e fungo podem explicar a menor extinção não fotoquímica desses tratamentos, apesar do menor valor de gH^+ . Desta forma, a transferência de elétrons do fotossistema II para o fotossistema I não foi interrompida, o que pode ter ocasionado fotoinibição e produção de espécies reativas de oxigênio, confirmada pelos maiores valores de PhiNO nesses tratamentos.

O tratamento ácido húmico + fungo apresentou maior taxa relativa de fluxo de prótons do estroma para o lúmen (vH^+) através da membrana do tilacóide, se comparado aos demais tratamentos testados (Figura 9B). Essa variável é uma medida do influxo total de prótons decorrente do fluxo linear de elétrons (LEF) e fluxo cíclico de elétrons (CEF) (DAHALL e VANLERBERGHE, 2018).

No fluxo linear de elétrons o bombeamento de prótons para o lúmen dos tilacóides é originado da fotólise da água no fotossistema II e do ciclo da quinona no complexo citocromo b_6f . Enquanto no fluxo cíclico de elétrons, do fotossistema I, o gradiente de prótons é formado nos tilacóides durante a ciclagem de elétrons da ferredoxina para o pool de plastoquinona, retornando ao fotossistema I por meio do complexo citocromo b_6f e plastocianina (YAMORI e SHIKANAI, 2016).

As plantas em seu ambiente natural são frequentemente submetidas a estresses, como seca e altas temperaturas e oscilações de irradiância que podem restringir a assimilação de carbono. Nessas condições as plantas tornam-se mais susceptíveis a redução excessiva dos centros de reação, o que pode ocasionar fotodanos. Além disso, o equilíbrio entre a proporção de ATP/NADPH produzido e exigido para suprir os diferentes processos metabólicos da planta é afetado (BAKER *et al.*, 2007).

O fluxo cíclico de elétrons em torno do fotossistema I, desempenha importante papel na fotossíntese das plantas. Acredita-se que o fluxo cíclico de elétrons possua duas principais funções: suprir o déficit de ATP para o ciclo de Calvin-Benson, conforme exigido por uma estequiometria 3ATP:2NADPH na fotossíntese C3 e contribuir para formação de um gradiente de prótons suficiente para ativar a extinção não fotoquímica e proteger o fotossistema II contra fotodano (FAN *et al.*, 2016).

Diante dos resultados apresentados nesse experimento, pode-se sugerir que o valor mais elevado de vH^+ encontrado no tratamento ácido húmico + fungo foi em decorrência do seu maior fluxo linear de elétrons (LEF) e condutividade de prótons da ATP sintase do cloroplasto (gH^+), uma vez que o maior efluxo de prótons via ATP sintase do cloroplasto favorece o fluxo linear de elétrons e conseqüentemente o bombeamento de prótons do estroma para o lúmen dos tilacóides.

Uma outra possível justificativa para o maior valor de vH^+ nas plantas tratadas com ácido húmico e fungo pode ter sido a contribuição do fluxo cíclico de elétrons para formação do gradiente de prótons e síntese de ATP. A maior atividade do fluxo cíclico de elétrons pode favorecer a manutenção do transporte de elétrons na membrana tilacóide, por auxiliar na

ativação da extinção não fotoquímica da fotossíntese ou na maior atividade de gH^+ para síntese de ATP.

A menor taxa relativa de fluxo de prótons do estroma para o lúmen (vH^+) observada nos tratamentos testemunha, ácido húmico e fungo pode ser justificada pelos menores valores de fluxo linear de elétrons, extinção não fotoquímica e condutividade de prótons da ATP sintase do cloroplasto encontrados nesses tratamentos.

Avaliando os resultados apresentados na Figura 9C nota-se que as plantas que receberam os tratamentos com inóculo do fungo *Serendipita indica* e aplicação do ácido húmico apresentaram índice SPAD superior à testemunha, sendo o tratamento ácido húmico + fungo o que apresentou maior valor.

O menor índice SPAD observado na testemunha pode estar relacionado ao processo de absorção e distribuição de nutrientes na planta. O nitrogênio (N) é um elemento que possui alta mobilidade na planta, sendo assim valores menores de SPAD pode indicar menor acúmulo de N na parte aérea da planta. A análise nutricional de raízes realizada nesse experimento mostra que a testemunha obteve maior teor de nitrogênio na raiz, podendo assim ser uma justificativa para o menor índice SPAD da testemunha. Sendo assim os tratamentos testados nesse trabalho podem ter contribuído para maior translocação de N para parte aérea da planta.

Ainda não se sabe com clareza os mecanismos pelos quais os ácidos húmicos aumentam a fotossíntese das plantas (WANG *et al.*, 2019). Entretanto, trabalhos descritos na literatura com diferentes culturas como alface (HAGHIGHI *et al.*, 2012), milho (SHEN *et al.*, 2020) e batata (MAN-HONG *et al.*, 2020) relatam que a aplicação desse bioestimulante tem efeito significativo sobre vários parâmetros fotossintéticos, dentre eles o índice SPAD, corroborando com os resultados encontrados nesse trabalho.

O maior valor de índice SPAD observado no tratamento ácido húmico + fungo também pode estar associado a maior absorção de ferro, obtida na análise nutricional das raízes das plantas. Liu *et al.* (2017) avaliando alterações fotossintéticas ao longo do ciclo do arroz, observou que as plantas tratadas com ferro aumentaram o índice SPAD em relação as plantas não tratadas, indicando que o ferro desempenha papel importante no aumento da síntese de clorofila. O ferro desempenha papel fundamental na fotossíntese das plantas, sendo necessário para síntese de pigmentos, atividade de enzimas fotossintéticas, estrutura do cloroplasto e cadeia transportadora de elétrons (VIGANI *et al.*, 2013).

O maior sinal de deslocamento eletrocromico (ECS) também foi observado no tratamento ácido húmico + fungo (Figura 9D). O ECS representa uma mudança nas bandas de absorção dos pigmentos fotossintetizantes, sendo linearmente correlacionado com a formação

de um potencial de membrana através das membranas tilacóides na presença de luz (BAILLEUL *et al.*, 2010). Este sinal é usado para monitorar a formação da força motriz de prótons nas folhas (FAN *et al.*, 2016).

A força motriz de prótons (pmf) é formada por dois componentes, sendo eles o gradiente de prótons (ΔpH) e o potencial de membrana ($\Delta \psi$). Ambos contribuem para síntese de ATP via ATP sintase do cloroplasto, entretanto em plantas superiores o fluxo de elétrons fotossintéticos e o sistema de fotoproteção são regulados pelo (ΔpH) (HUANG *et al.*, 2018).

A diminuição da força motriz de prótons pode ser atribuída ao menor influxo de prótons pelo fluxo linear de elétrons ou maior condutividade de prótons na membrana tilacóide (VELIKOVA *et al.*, 2021). Apesar do tratamento ácido húmico + fungo ter apresentado maior condutividade de prótons na membrana tilacóide (gH^+), sua força motriz de prótons, estimada pelo ECSt, foi superior aos demais tratamentos (Figura 9D). Isso pode indicar que o influxo de prótons (vH^+) no tratamento ácido húmico + fungo foi responsável por sustentar sua pmf.

Os tratamentos testemunha, apenas ácido húmico e apenas o fungo *Serendipita indica* apresentaram valores mais baixos de influxo de prótons (vH^+) podendo ter contribuído para o baixo valor de ECSt encontrado nesses tratamentos. Segundo Rott *et al.* (2011) a diminuição do ECSt pode ser considerada um processo de adaptação, a fim de atender a baixa disponibilidade de prótons dentro da membrana tilacóide.

A formação insuficiente de gradiente de prótons (ΔpH) contribui para uma baixa extinção não fotoquímica (NPQ) (TOWNSEND *et al.*, 2018). Isso corrobora com os resultados encontrados neste trabalho, no qual os tratamentos que obtiveram menores ECSt também apresentam menor extinção não fotoquímica.

A energia luminosa absorvida pelos pigmentos fotossintetizantes, encontrado nos cloroplastos das plantas, pode ser destinada a três rotas concorrentes: (1) ser usada na fotossíntese (etapa fotoquímica), (2) ser dissipada como calor e (3) ser reemitida na forma de luz (fluorescência) (MURCHIE e LAWSON, 2013). A determinação da fluorescência da clorofila a é um método simples e não destrutível capaz de quantificar a energia destinada nas três rotas. Sendo assim é uma ferramenta importante para compreensão do estado do aparato fotossintético da planta (MAIA JÚNIOR *et al.*, 2020).

4.5.3 Morfologia

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 6 observa-se que o comprimento de raízes foi maior nas plantas tratadas somente com o fungo, com valor médio

de 39,1 cm, contudo só diferiu significativamente da testemunha que apresentou valor médio de 30,8 cm. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis altura de plantas, volume de raízes, massa fresca de raízes, massa seca de raízes e massa seca da parte aérea.

Tabela 6 - Altura de planta, comprimento de raízes (CR), volume de raízes (VR), massa fresca de raízes (MFR) e massa seca de raízes (MSR) de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo *Serendipita indica*.

Tratamento	Altura (cm)	CR (cm)	VR^{*T} (ml)	MFR^{*T} (g)	MSR^{*T} (g)	MSPA (g)
Testemunha	153,4 a ¹	30,8 b	4,13 a	4,20 a	1,57 a	12,6 a
AH	158,4 a	36,3 ab	3,85 a	3,98 a	1,43 a	8,7 a
Fungo	159,7 a	39,1 a	5,09 a	5,28 a	1,86 a	10,6 a
AH + Fungo	147,5 a	33,6 ab	4,63 a	4,80 a	1,73 a	9,3 a
QM Tratamento	153,7 ^{ns}	64,0 [*]	1,51 ^{ns}	1,75 ^{ns}	0,175 ^{ns}	14,8 ^{ns}
CV (%)	15,0	12,5	17,6	17,8	19,34	21,3

¹ Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. * e ^{ns} Significativo a 5% e não significativo pelo teste F, respectivamente.

^{*T} Dados transformados por meio da fórmula Raiz quadrada - SQRT.

Apesar do efeito da inoculação com o fungo *S. indica* no presente estudo ter sido observado apenas no comprimento de raízes, vários trabalhos demonstram o efeito positivo da inoculação com o mesmo fungo no crescimento tanto da parte aérea, como do sistema radicular das plantas. Sabra *et al.* (2018) obtiveram aumento na massa seca da parte aérea e das raízes de plantas de manjerição (*Ocimum basilicum*), Moreira *et al.* (2015) observaram aumento na altura de plântulas de abacaxi, Nautiyal *et al.* (2010) obtiveram aumento da altura, massa seca e absorção de nutrientes em grão de bico. Muitos desses estudos tem indicado que a promoção do crescimento das plantas pelo fungo está associada a ativação da biossíntese de auxina ou indução de auxina em plantas hospedeiras. Entretanto, ainda são necessárias mais investigações para explorar a interação microrganismo-planta e seus efeitos.

Su *et al.* (2017) verificaram que a inoculação com *S. indica* esteve intensamente envolvida no crescimento radicular de plantas de colza (*Brassica napus* L.) aumentando o comprimento de raízes, número de raízes laterais, bem como a massa fresca e seca de raízes. Ainda, segundo os autores, o efeito no crescimento radicular pode estar associado a ativação da

biossíntese de auxina mediada por *Serendipita indica*, uma vez que o crescimento radicular é controlado por esse hormônio.

4.5.4 Características produtivas

Analisando os resultados apresentados na Tabela 7, observa-se que o número de vagens por planta foi maior nos tratamentos com a presença do ácido húmico, diferindo estatisticamente da testemunha e do tratamento apenas com o fungo *Serendipita indica*. A variável produtividade de grãos por parcela apresentou comportamento semelhante, com maior valor no tratamento ácido húmico + fungo, entretanto não diferiu estatisticamente das plantas tratadas somente com o ácido húmico. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis número de grãos por vagem e massa de cem grãos.

O aumento no número de vagens e da produtividade de grãos pode ser atribuído aos diversos grupos funcionais das substâncias húmicas, como grupos carboxílicos, fenólicos, hidroxílicos e quinonílicos, que favorecem o crescimento das plantas, aumento do número de flores e frutos, resultando em uma maior produtividade das culturas (HALPERN *et al.*, 2015).

Tabela 7 - Número de vagens por planta (NVP), número de grãos por vagem (NGV), massa de cem grãos (MCG) e produtividade de grãos por parcela (PROD) de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo *Serendipita indica*.

Tratamento	NVP	NGV	MCG (g)	PROD (g parcela ⁻¹)
Testemunha	4,5 b	5,5 a	28,4 a	13,61 b
AH	5,9 a	4,8 a	28,2 a	16,04 ab
Fungo	4,9 b	5,4 a	28,3 a	14,45 b
AH + Fungo	5,8 a	5,3 a	29,6 a	18,27 a
QM Tratamento	2,29*	0,44 ^{ns}	2,25 ^{ns}	21,0*
CV (%)	8,6	19,5	13,5	12,1

¹ Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo de Tukey a 5% de significância. * e ^{ns} Significativo a 5% e não significativo pelo teste F, respectivamente.

Os ácidos húmicos possuem a capacidade de estimular a atividade e a eficiência catabólica dos microrganismos benéficos presentes no solo, como micorrizas e antagonistas, produzindo equilíbrio biológico ao nível da raiz. Esses efeitos são decorrentes do alto teor de matéria humificada e presença de diversos nutrientes, tais como enxofre, fósforo e nitrogênio,

nessa fração da matéria orgânica do solo (FERNANDO *et al.*, 2017). Além disso, as maiores atividades enzimáticas do solo, bem como a maior diversidade funcional, podem ser encontradas em frações do solo com matéria orgânica abundante (LAGOMARSINO *et al.*, 2012).

Canelas *et al.* (2013) e Olivares *et al.* (2015) avaliando o efeito da aplicação combinada de substâncias húmicas e microrganismos promotores de crescimento de plantas demonstraram que a aplicação combinada de bactérias diazotróficas endofíticas e substâncias húmicas aumentou a produção de grãos de milho em 65% e a produção de frutos de tomate em 87,1 % em condições de campo.

Os valores semelhantes entre os tratamentos para as variáveis número de grãos por vagem e massa de cem grãos (Tabela 7) mostram que essas variáveis são mais controladas pelo fator genético do feijão em comparação à mudança proporcionada pela aplicação do ácido húmico e inoculação com o fungo *S. indica*.

No presente estudo o tratamento apenas com a inoculação do fungo *S. indica* não proporcionou aumento nas características produtivas do feijoeiro em comparação com a testemunha. Aumento no rendimento de grãos com a colonização de raízes com o fungo *S. indica* foram obtidos por Achatz *et al.* (2010) em cevada. Ainda, segundo os autores a colonização com o fungo proporcionou desenvolvimento mais rápido e maior atividade fotossintética das plantas, mesmo em baixas intensidades de luz.

4.5.5 Acúmulo de nutrientes nas raízes

Observando o quadro de análise de variância para o teor de macronutrientes, no sistema radicular do feijoeiro, constata-se que houve diferença significativa entre os tratamentos testados para as variáveis nitrogênio ($p < 0,01$) e enxofre ($p < 0,05$). Para os macronutrientes fósforo, potássio, cálcio e magnésio não foi observado diferença significativa entre os tratamentos, indicando que os tratamentos avaliados não influenciaram no teor desses nutrientes no sistema radicular do feijoeiro nas condições deste experimento (Tabela 8).

Tabela 8 - Análise de variância para o teor dos macronutrientes N (nitrogênio), P (fósforo), K (potássio), Ca (Cálcio), Mg (magnésio) e S (enxofre) acumulados nas raízes de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo *Serendipita indica*.

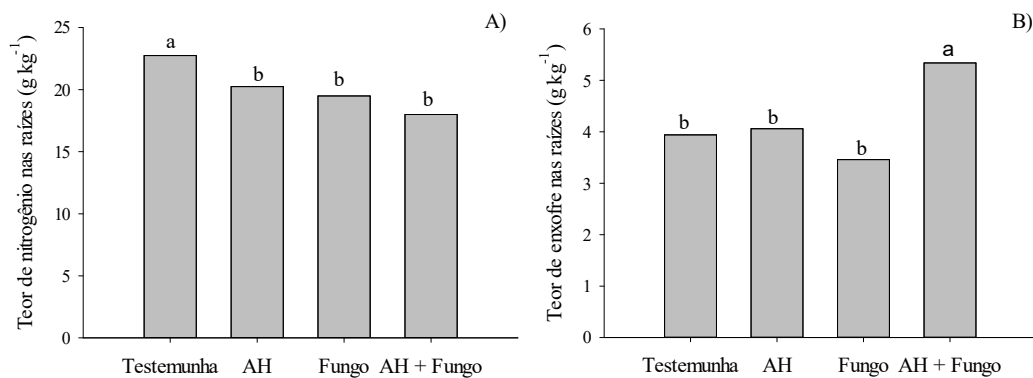
FV	GL	Quadrado médio					
		N	P	K ^{*T}	Ca	Mg	S
Tratamentos	3	19,7**	0,24 ^{ns}	0,36 ^{ns}	5,9 ^{ns}	0,12 ^{ns}	3,22*
Blocos	4	8,6**	0,24 ^{ns}	0,52 ^{ns}	4,9 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,16 ^{ns}
Resíduo	12	1,5	0,14	0,60	2,5	0,05	0,11
Total	19	-	-	-	-	-	-
CV (%)		6,1	18,3	27,4	20,1	12,8	7,8

* e ^{ns} Significativo a 5% e não significativo pelo teste F, respectivamente.

^{*T}Dados transformados por meio da fórmula Raiz quadrada - SQRT.

O maior teor de nitrogênio na raiz foi encontrado na testemunha e, entre os tratamentos que receberam ácido húmico e/ou fungo *Serendipita indica*, não foi observada diferença significativa para o teor de nitrogênio das raízes (Figura 10A).

Figura 10 - Valores médios do teor de nitrogênio (A) e enxofre (B) nas raízes de feijão submetido aos tratamentos com ácido húmico e fungo *Serendipita indica*.



O maior teor de nitrogênio encontrado no sistema radicular da testemunha (Figura 10A), pode estar relacionado com a demanda fotossintética da planta. A testemunha apresentou menor eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Φ_2) (Figura 8A), indicando menor taxa fotossintética. Esta inferência é apoiada nos resultados de índice SPAD (Figura 9C) e produtividade de grãos por parcela (Tabela 7), no qual a testemunha apresentou menores

valores. Com a menor taxa fotossintética a demanda de nitrogênio para a parte aérea das plantas foi reduzida, o que pode ter ocasionado acúmulo de nitrogênio nas raízes. A menor extrusão de H^+ por grama de raiz seca obtida na testemunha (Figura 6) pode reforçar o comprometimento da fotossíntese nesse tratamento, uma vez que a atividade da H^+ -ATPase, estimada pela medida da acidez em solução, pode ser dependente da energia produzida na fotossíntese.

O tratamento ácido húmico + fungo apresentou menor teor de nitrogênio na raiz. Entretanto, foi identificado nesse tratamento maior eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Phi2) (Figura 8A) e maior índice SPAD (Figura 9C) e produtividade de grãos por parcela (Tabela 7), indicando maior taxa fotossintética. Com isso podemos inferir que nesse tratamento a demanda de nitrogênio para a parte aérea das plantas foi maior, podendo ter ocasionado maior transporte de nitrogênio para as folhas e menor acúmulo na raiz. A maior extrusão de H^+ obtida no tratamento ácido húmico + fungo pode estar relacionada com a melhor eficiência fotossintética obtida nesse tratamento.

Os efeitos do fungo *Serendipita indica* na absorção de nitrogênio ainda não foram bem caracterizados e requerem mais estudos. O genoma do fungo *S. indica* possui transportadores para diferentes formas de nitrogênio, incluindo transportadores de amônio, transportadores de aminoácidos, permease de ureia, purina e uracila, contudo não contém genes que codificam a captação de nitrato (ZUCCARO *et al.*, 2011). Entretanto, esse fungo demonstrou capacidade de aumentar a assimilação de nitrato e o teor de nitrogênio na parte aérea das plantas por meio da indução da enzima nitrato redutase nos tecidos radiculares (SHERAMETI *et al.*, 2005). Liu *et al.* (2022) também identificaram melhoria da assimilação de nitrogênio mediante aumento da atividade da enzima nitrato redutase em plântulas de morangueiro colonizadas com o fungo *Serendipita indica*.

De acordo com Bajaj *et al.* (2018) a absorção e transporte de nitrogênio para a parte aérea das plantas pode ocorrer diretamente por meio de transportadores de uréia, amônio e aminoácidos, ainda não caracterizados ou indiretamente através da interação sinérgica com rizóbios. Neste trabalho os autores identificaram nódulos de maior tamanho em plantas de soja colonizadas com o fungo *Serendipita indica*.

A promoção do crescimento das plantas colonizadas por *Serendipita indica* pode também ser decorrente do aumento da disponibilidade de nutrientes para a planta hospedeira. Segundo Shahollari *et al.* (2005) esse fungo é capaz de estimular o crescimento das plantas antes mesmos da colonização radicular perceptível, o que pode ser atribuído a maior disponibilidade de nutrientes e transferência para a parte aérea das plantas.

O ácido húmico pode contribuir para melhoria da nutrição vegetal de diferentes maneiras. O próprio desmonte da aparentemente complicada estrutura dos ácidos húmicos, resultante da liberação de ácidos orgânicos pelas raízes das plantas, aumenta a disponibilidade de nutrientes na zona radicular das culturas favorecendo a absorção de elementos essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas (RADY *et al.*, 2016).

Entre os efeitos do ácido húmico diretamente ligados a nutrição de plantas está a sua capacidade de estimular a atividade da H⁺-ATPase que, por sua vez, energiza os transportadores de íons secundários e promove a absorção de nutrientes. O gradiente eletroquímico de prótons gerado pela indução da H⁺-ATPase facilita a absorção de nitrato, uma vez que o transporte desse nutriente através da membrana plasmática é ativo e dependente da bomba de prótons (CANELLAS *et al.*, 2015).

O uso de ácido húmico proveniente de vermicomposto também estimula o influxo de nitrogênio para as plantas tanto na forma de nitrato (NO₃⁻) quanto na forma de amônio (NH₄⁺) (TAVARES *et al.*, 2019), já que o ácido húmico altera o metabolismo do nitrogênio ativando enzimas relacionadas a assimilação desse nutriente, como a nitrato redutase e a glutamina sintetase (ZANIN *et al.*, 2018).

O maior teor de enxofre na raiz foi encontrado no tratamento ácido húmico + fungo (Figura 10B). As plantas colonizadas com o fungo *Serendipita indica* podem apresentar maior teor de enxofre total que as plantas não colonizadas. Segundo Narayan *et al.* (2021) o fungo *Serendipita indica* possui transportadores de sulfato de alta afinidade (*PiSulT*) que desempenha papel importante na transferência de sulfato do solo para a planta, principalmente sob condições de baixo teor de sulfato.

Pinos *et al.* (2019), avaliando a combinação de substâncias húmicas e fungos micorrízicos arbusculares em milho, verificaram que todos os tratamentos com substâncias húmicas e fungos aplicados isolados ou em combinação apresentaram maior concentração de enxofre nas plantas em comparação com a testemunha, diferindo do presente trabalho, em que o aumento no teor de enxofre em comparação com a testemunha só foi observado no tratamento combinado de ácido húmico e fungo.

Para o teor de micronutrientes no sistema radicular do feijoeiro, observa-se que houve diferença significativa entre os tratamentos testados para os nutrientes ferro ($p < 0,05$) e manganês ($p < 0,05$). Para boro, cobre e zinco não foi observada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 9).

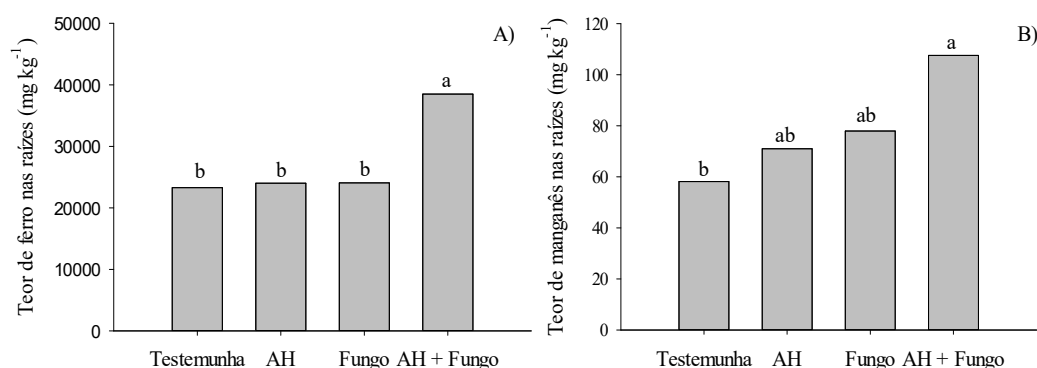
Tabela 9 - Análise de variância para o teor dos micronutrientes B (boro), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn) e Zinco (Zn) acumulados nas raízes de feijão em combinações de tratamentos com ácido húmico e o fungo *Serendipita indica*.

FV	GL	Quadrado médio				
		B	Cu	Fe	Mn	Zn
Tratamentos	3	5,0 ^{ns}	10,3 ^{ns}	271180793*	2192*	159,1 ^{ns}
Blocos	4	72,4 ^{ns}	19,3 ^{ns}	37021997 ^{ns}	1491 ^{ns}	32,0 ^{ns}
Resíduo	12	57,9	22,8	48721617	595	100,0
Total	19	-	-	-	-	-
CV (%)		24,5	13,7	25,4	31,0	17,0

* e ^{ns} Significativo a 5% e não significativo pelo teste F, respectivamente.

O tratamento com aplicação conjunta de ácido húmico e o fungo *Serendipita indica* proporcionou maior teor de ferro e manganês nas raízes de feijão, contudo, para o manganês esse tratamento só diferiu significativamente da testemunha (Figuras 11A e 11B).

Figura 11 - Valores médios do teor de ferro (A) e manganês (B) nas raízes de feijão submetido aos tratamentos com ácido húmico e fungo *Serendipita indica*.



Verma *et al.* (2022) identificaram, isolaram e caracterizaram um transportador de ferro (PiFTR) de alta afinidade no fungo *Serendipita indica*. A expressão do PiFTR é dependente do nível de colonização e é maior nas hifas externas do fungo, sobretudo em condições limitantes de ferro. Desta forma, o fungo desempenha papel fundamental na melhoria de absorção de ferro em suas plantas hospedeiras, quando há baixa disponibilidade de ferro no meio.

A utilização do ácido húmico afeta a biodisponibilidade e o acúmulo de nutrientes como o ferro e manganês. As moléculas húmicas ao interagir com esses metais formam complexos metálicos orgânicos solúveis que são mais eficientes no fornecimento de nutrientes às plantas (EKINCI *et al.*, 2015). Ainda de acordo com Zanin *et al.* (2019) a formação de complexos de substâncias Fe-húmicas pode promover a disponibilidade de Fe no solo, aumentando sua absorção e facilitando sua movimentação e translocação para as plantas.

O maior teor de ferro e manganês nas plantas tratadas com ácido húmico + fungo pode estar associado ao maior comprimento do sistema radicular dessas plantas, pois devido a baixa mobilidade desses nutrientes no solo, a sua absorção ocorre principalmente por interceptação radicular.

5 CONCLUSÕES

As evidências experimentais obtidas nesse estudo permitiram aceitar a hipótese delimitada na tentativa de responder a problemática desse trabalho, onde buscou verificar se o ácido húmico reduz o crescimento do fungo *Serendipita indica* e se a utilização conjunta de ácido húmico e do fungo *Serendipita indica* melhora a fisiologia e nutrição do feijão-comum, proporcionando incrementos no crescimento e produtividade. A partir dos resultados as principais conclusões que puderam ser obtidas foram:

- 1) A aplicação do ácido húmico não interfere no crescimento do fungo *Serendipita indica*, contudo, a eficiência de colonização radicular do mesmo é afetada.
- 2) A concentração de ácido húmico de 200 mg L⁻¹ proporciona maior crescimento radicular no início da fase de crescimento das plantas de feijoeiro.
- 3) A aplicação conjunta do ácido húmico na concentração de 200 mg L⁻¹ com o fungo *Serendipita indica* ocasiona melhoria nas características fisiológicas eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Phi2), extinção de energia não fotoquímica (PhiNPQ), fluxo linear de elétrons (LEF), condutividade de prótons da ATP sintase do cloroplasto (gH⁺), taxa relativa de fluxo de prótons do estroma para o lúmen (vH⁺), índice SPAD e sinal de deslocamento electrocrômico (ECS), além de apresentar maior extrusão de prótons pelo sistema radicular do feijoeiro.

- 4) A aplicação isolada do ácido húmico no feijoeiro traz maior custo benefício que a associação ácido húmico + fungo, considerando as variáveis produtivas número de vagens por planta (NVP), número de grãos por vagem (NGV), massa de cem grãos (MCG) e produtividade de grãos por parcela (PROD).
- 5) O uso combinado do ácido húmico na concentração de 200 mg L⁻¹ com o fungo *Serendipita indica* proporciona menor acúmulo do nitrogênio e maior de enxofre, ferro e manganês no sistema radicular do feijoeiro.

REFERÊNCIAS

- ABHILASH, P. C. C.; DUBEY, R. K.; TRIPATHI, V.; GUPTA, V. K.; SINGH, H. B. Plant Growth-Promoting Microorganisms for Environmental Sustainability. **Trends in Biotechnology**, v. 34, n. 11, p. 847-850, 2016.
- ACHATZ, B.; RUDEN, S. V.; ANDRADE, D.; NEUMANN, E.; KUHNEMANN, J. P.; KOGEL, K. H. Root colonization by *Piriformospora indica* enhances grain yield in barley under diverse nutrient regimes by accelerating plant development. **Plant Soil**, v. 333, p. 59-70, 2010.
- AGUIAR, N. O.; OLIVARES, F. L.; NOVOTNY, E. H.; DOBBSS, L. B.; BALMORI, D. M.; SANTOS-JÚNIOR, L. G.; CHAGAS, J. G.; FAÇANHA, A. R.; CANELLAS, L. P. Bioactivity of humic acids isolated from vermicomposts at different maturation stages. **Plant Soil**, v. 362, p. 161–174, 2013.
- AGUIAR, N. O.; MEDICI, L. O.; OLIVARES, F. L.; DOBBSS, L. N.; TORRES-NETO, A.; SILVA, S.F.; NOVOTNY, E.H.; CANELLAS, L.P. Metabolic profile and antioxidant responses during drought stress recovery in sugarcane treated with humic acids and endophytic diazotrophic bacteria. **Annals of Applied Biology**, v. 168, n. 2, p. 203-213, 2016.
- AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. **Journal of King Saud University - Science**, v. 26, n. 1, p. 1-20, 2014.
- ALVES, G. C.; VIDEIRA, S. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Differential plant growth promotion and nitrogen fixation in two genotypes of maize by several *Herbaspirillum* inoculants. **Plant and Soil, The Hague**, v. 387, p. 307-321, 2015.
- ARAÚJO, K. V.; PITTARELLO, M.; CARLETTI, P.; CAMPOS, A. R. M.; DOBBSS, L. B. Structural characterization and bioactivity of humic and fulvic acids extracted from preserved and degraded Brazilian cerrado biomes soils. **Eurasian Soil Science**, v. 54, p. 516-525, 2021.
- ASUMING-BREMPOG, S. Phosphate solubilizing microorganisms and their ability to influence yield of rice. **Agricultural Science Research Journal**, Legon, v. 3, n. 12, p. 379-386, 2013.
- BAILLEUL, B.; CARDOL, P.; BREYTON, C.; FINAZZI, G. Electrochromism: a useful probe to study algal photosynthesis. **Photosynth Research**, v. 106, p. 179–189, 2010.
- BAJAJ, R.; HUANG, Y.; GEBRECHRISTOS, S.; MIKOLAJCZYK, B.; BROWN, H.; PRASAD, R.; VARMA, A.; BUSHLEY, K. E. Transcriptional responses of soybean roots to colonization with the root endophytic fungus *Piriformospora indica* reveals altered phenylpropanoid and secondary metabolism. **Scientific Reports**, v. 8, n. 10227, p. 1-18, 2018.
- BAKER, N. R.; HARBINSON, J.; KRAMER, D. M. Determining the limitations and regulation of photosynthetic energy transduction in leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 1107–1125, 2007.

BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; GIRO, V. B.; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; BRESSAN-SMITH, R. Desempenho do abacaxizeiro 'Vitória' em resposta à aplicação de ácidos húmicos durante aclimação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 979-990, 2009.

BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Ácidos húmicos. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 7, p. 856-881, 2014.

BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Desempenho inicial do milho em resposta ao tratamento de sementes com ácidos húmicos isolados de bokashi. **Revista Ceres**, v. 63, n. 1, p. 62-67, 2016.

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. **Informações Técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região Central-Brasileira**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPACNPAF, 2012, 247p. (Documentos, 272).

BORCIONI, E.; MÓGOR, A. F.; PINTO, F. Aplicação de ácido fúlvico em mudas influenciando o crescimento radicular e produtividade de alface americana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 3, p. 509-515, 2016.

CABRAL, L.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; PINTO, J. E. B. P. Retenção de metais pesados em micélio de fungos micorrízicos arbusculares. **Química Nova**, v. 33, n.1, 2010.

CADORE, L. S. Avaliação do Crescimento Inicial da Soja Utilizando Formulações de Trichoderma. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 15, n. 27, p. 170, jun. 2018.

CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; OKOROKOVA-FAÇANHA, A. L.; FAÇANHA, A. R. Humic Acids Isolated from Earthworm Compost Enhance Root Elongation, Lateral Root Emergence, and Plasma Membrane H⁺-ATPase Activity in Maize Roots. **Plant Physiology**, v. 130, n. 4, p. 1951–1957, 2002

CANELLAS, L. P.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A.; DOBBSS, L. B.; OKOROKOVA-FAÇANHA, A. L.; DE ARAÚJO SANTOS, G.; OLIVARES, F. L.; FAÇANHA, A. R. Relationships between chemical characteristics and root growth promotion of humic acids isolated from Brazilian oxisols. **Soil Science**, v.174, n.11, p.611-620, 2009.

CANELLAS, L. P.; DOBBSS, L. B.; OLIVEIRA, A. L.; CHAGAS, J. G.; AGUIAR, N. O.; RUMJANEK, V. M.; NOVOTNY, E. H.; OLIVARES, F. L.; OLIVARES, F. L.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Chemical properties of humic matter as related to induction of plant lateral roots. **European Journal of Soil Science**, v. 63, p. 315-324, 2012.

CANELLAS, L. P.; BALMORI, D. M.; MÉDICI, L. O.; AGUIAR, N. O.; CAMPOSTRINI, E.; ROSA, R. C. C.; FAÇANHA, A. R.; OLIVARES, F. L. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). **Plant Soil**, v.366, p.119-132, 2013.

CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, n. 3, p. 1-11, 2014.

CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; AGUIAR, N. O.; JONES, D. L.; NEBBIOSO, A.; MAZZEI, P.; PICCOLO, A. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 15-27, 2015.

CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; CANELLAS, N. O. A.; MAZZEI, P.; PICCOLO, A. Humic acids increase the maize seedlings exudation yield. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v.6, p.1-14, 2019.

CAROVIĆ-STANKO, K.; LIBER, Z.; VIDAK, M. BAREŠIĆ, A.; GRDIŠA, M. LAZAREVIĆ, B.; ŠATOVIĆ, Z. Genetic Diversity of Croatian Common Bean Landraces. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1-8, 2017.

CARTER, M. R. Organic matter and sustainability. In: REES, R.M.; BALL, B.C.; CAMPBELL, C.D.; WATSON, C.A. (Ed.). **Sustainable management of soil organic matter**. New York: CABI. p. 9-22, 2001.

CASIMIRO, I.; MARCHANT, A.; BHALERAO, R. P.; BEECKMAN, T.; DHOOGHE, S.; SWARUP, R.; GRAHAM, N.; INZE, D.; SANDBERG, G.; CASERO, P. J.; BENNETT, M. Auxin transport promotes Arabidopsis lateral root initiation. **Plant Cell**, v. 13 n. 4, p. 843-852, 2001.

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

CHAGAS, L. F. B., CHAGAS JUNIOR, A. F., SOARES, L. P. & FIDELIS, R. R. (2017). Trichoderma na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 3, 97-102, 2017.

CHAUHAN, H.; BAGYARAJ, D.J.; SHARMA, A. Plant growthpromoting bacterial endophytes from sugarcane and their potential in promoting growth of the host under field conditions. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 49, p. 43-52, 2013.

CHEN, Y.; NOBILI, M.; AVIAD, T. Stimulatory effects of humic substances on plant growth. **Soil organic matter in sustainable agriculture**, v. 25, p. 103-129, 2004.

CHENG, C.; LI, D.; WANG, B.; LIAO, B.; QU, P.; LIU, W.; ZHANG, Y.; LÜ, P. *Piriformospora indica* colonization promotes the root growth of *Dimocarpus longan* seedlings. **Scientia Horticulturae**, v. 301, p. 1-7, 2022.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2021/2022**. Nono levantamento. v. 9, n. 9. Brasília, DF: Conab,

2022. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 15 mai. 2022.

CONCEIÇÃO, P. M.; VIEIRA, H.D.; CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.P.; CONCEIÇÃO, P.S. Efeito dos ácidos húmicos na inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em sementes de milho. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1880-1883, 2009.

CONSELVAN, G. B.; PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; FOGGIA, M.; NARDI, S.; CARLETTI, P. Biostimulant activity of humic substances extracted from leonardites. **Plant Soil**, v. 420, p. 119-134, 2017.

DAHAL, K.; VANLERBERGHE, G. C. Improved chloroplast energy balance during water deficit enhances plant growth: more crop per drop. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 5, p.1183-1197, 2018

DAS, A.; SHERAMATI, I.; VARMA, A. **Contaminated soils: physical, chemical and biological components**. In: VARMA, A.; KOTHE, E. (eds). Bio-geo interactions in metal-contaminated soils. Springer, Heidelberg, pp 1-16, 2012a.

DAS, A.; KAMAL, S.; SHAKIL NAJAM, A.; SHERAMATI, I.; OELMÜLLER, R.; DUA, M.; TUTEJA, N.; JOHRI ATUL, K.; VARMA, A. The root endophyte fungus *Piriformospora indica* leads to early flowering, higher biomass and altered secondary metabolites of the medicinal plant, *Coleus forskohlii*. **Plant Signal Behav**, v.7, p.1-10, 2012b.

DIDONET, A. D.; CARVALHO, M. A. de F. Fisiologia. In: GONZAGA, A. C. (Ed.). **Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 2. ed. ver. e atual. Brasília, DF: Embrapa, 2014.p. 31-40.

DIMKPA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant, Cell & Environment**, Weinheim, v. 32, p. 1682-1694, 2009.

DMITRIEVA, V. A.; TYUTEREVA, E. V.; VOITSEKHOVSKAJA, O. V. Singlet Oxygen in Plants: Generation, Detection, and Signaling Roles. **Molecular Sciences**, v. 21, p. 1-23, 2020.

DOBBSS, L. B.; MEDICI, L. O.; PERES, L. E. P.; PINO-NUNES, L. E.; RUMJANEK, V. M.; FAÇANHA, A. R.; CANELLAS, L.P. Changes in root development of *Arabidopsis* promoted by organic matter from oxisols. **Annals of Applied Biology**, v. 151, p. 199-211, 2007.

DOBBSS, L. B.; RUMJANECK, V. M.; BALDOTTO, M. A.; VELLOSO, A. C. X.; CANELLAS, L. P. Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de Latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 51-63, 2009.

DOBBSS, L. B.; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; AGUIAR, N. O.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, M.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A.; FAÇANHA, A. R. Bioactivity of chemically transformed Humic matter from vermicompost on plant root growth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 3681-3688, 2010.

DONG, S.; TIAN, Z.; CHEN, P. J.; KUMAR, R. S.; SHEN, C. H.; CAI, D.; OELMÜLLER, R.; YEH, K. W. The maturation zone is an important target of *Piriformospora indica* in Chinese cabbage roots. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 14, p. 4529–4540, 2013.

DOURADO-NETO, D.; FANCELLI, A. L. **Descrição dos estádios fenológicos e ecofisiologia**. In: Produção de feijão. Guaíba: Agropecuária, p. 33-45, 2000.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 3-14, 2015.

DUTTA, D; PUZARI, K. C; GOGOI, R; DUTTA, P. Endophytes: exploitation as a tool in plant protection. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57 n.5, p. 621-629, 2014.

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. Ampl. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

EKINCI, M.; ESRINGÜ, A.; DURSUN, A.; YILDIRIM, E.; TURAN, M.; KARAMAN, M. R.; ARJUMEND, T. Growth, yield, and calcium and boron uptake of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.) as affected by calcium and boron humate application in greenhouse conditions. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 39, n. 5, p. 613-632, 2015.

ESHGHI, S., GARAZHIAN, M. Improving growth, yield and fruit quality of strawberry by foliar and soil drench applications of humic acid. **Iran Agricultural Research**, v. 34, n. 1, p. 14-20, 2015.

FAÇANHA, A. R.; FAÇANHA, A. L. O.; OLIVARES, F. L.; GURIDI, F.; SANTOS, G. A.; VELLOSO, A. C. X.; RUMJANEK, V.M.; BRASIL, F.; SCHRIPEMA, J.; BRAZ-FILHO, R.; OLIVEIRA, M.A.; CANELLAS, L. P. Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1301-1310, 2002.

FAKHRO, A.; ANDRADE-LINARES, D. R.; VON BARGEN, S.; BANDTE, M.; BÜTTNER, C.; GROSCH, R.; SCHWARZ, D.; FRANKEN, P. Impact of *Piriformospora indica* on tomato growth and on interaction with fungal and viral pathogens. **Mycorrhiza**, v. 20, p. 191-200, 2010.

FALHOF, J.; PEDERSEN, J. T.; FUGLSANG, A. T.; PALMGREN, M. Plasma Membrane H⁺-ATPase Regulation in the Center of Plant Physiology. **Molecular Plant**, v. 9, n. 3, p. 323-337, 2016.

FAN, D. Y.; FITZPATRICK, D.; OGUCHI, R.; MA, W.; KOU, J.; CHOW, W. S. Obstacles in the quantification of the cyclic electron flux around Photosystem I in leaves of C3 plants. **Photosynth Res**, v. 129, p. 239-251, 2016.

FAN, H-M.; WANG, X-W.; SUN, X.; LI, Y-Y.; SUN, X-Z.; ZHENG, C-S. Effects of humic acid derived from sediments on growth, photosynthesis and chloroplast ultrastructure in chrysanthemum. **Scientia Horticulturae**, v. 177, p. 118-123, 2014.

FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. **Feijão Irrigado: Tecnologia e Produção**. Piracicaba: USP. 174p., 2005.

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

FELBER, A. C.; ORLANDELLI, S. A.; GARCIA, A.; COSTA, A. T.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A. Bioprospecting foliar endophytic fungi of *Vitis labrusca* Linnaeus, Bordô and Concord cv. **Annals of Microbiology**, v. 66, p.765–775, 2016.

FERNANDO, A.; DIANA, V.; JULIO, G. El caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) y su respuesta a la aplicación de ácidos húmicos (AH's) en el Cantón Jipijapa en Ecuador. **Journal of the Selva Andina Biosph**, v. 5, n. 1, p. 4-14, 2017.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

GARCÍA, A. C.; DE SOUZA, L. G. A.; PEREIRA, M. G.; CASTRO, R. N.; GARCÍA-MINA, J. M.; ZONTA, E.; BERBARA, R. L. L. Structure-Property-Function Relationship in Humic Substances to Explain the Biological Activity in Plants. **Scientific reports**, 6, (20798), 2016.

GAWROŃSKI, P.; WITOŃ, D.; VASHUTINA, K.; BEDERSKA, M.; BETLIŃSKI, B.; RUSACZONEK, A.; KARPIŃSKI, S. Mitogen-Activated Protein Kinase 4 Is a Salicylic Acid-Independent Regulator of Growth But Not of Photosynthesis in Arabidopsis. **Molecular Plant**, v. 7, p. 1151–1166, 2014.

GILL, S. S.; GILL, R.; TRIVEDI, D. K.; ANJUM, N. A.; SHARMA, K. K.; ANSARI, M. W.; ANSARI, A. A.; JOHRI, A. K.; PRASAD, R.; PEREIRA, E.; VARMA, A.; TUTEJA, N. *Piriformospora indica*: Potential and Significance in Plant Stress Tolerance. **Frontiers in Microbiology**, v. 332, n. 7, p. 1-20, 2016.

GRYNDLER, M.; HRSELOVÁ, H.; SUDOVÁ, R.; GRYNDLEROVÁ, H.; ŘEZÁCOVÁ, V.; MERHAUTOVÁ, V. Hyphal growth and mycorrhiza formation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum* BEG23 is stimulated by humic substances. **Mycorrhiza**, v. 15, n. 483-488, 2005.

HAGHIGHI, M.; KAFI, M.; FANG, P. Photosynthetic Activity and N Metabolism of Lettuce as Affected by Humic Acid. **International Journal of Vegetable Science**, v. 18, p. 182–189, 2012.

HALPERN, M.; BAR-TAL, A.; OFEK, M.; MINZ, D.; MULLER, T.; YERMIYAHU, U. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. **Advances in Agronomy**, v. 129, p. 141-174, 2015.

HAZRATI, S.; TAHMASEBI-SARVESTANI, Z.; MODARRES-SANAVY, S. A.M.; MOKHTASSI-BIDGOLI, A.; NICOLA, S. Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of Aloe vera L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 106, p. 141-148, 2016.

HUANG, W.; SUORSA, M.; ZHANG, S. B. In vivo regulation of thylakoid proton motive force in immature leaves. **Photosynthesis Research**, v. 138, p. 207–218, 2018.

HUI, F.; LIU, J.; GAO, Q.; LOU, B. *Piriformospora indica* confers cadmium tolerance in *Nicotiana tabacum*. **Journal of Environmental Sciences**, v. 37, n. 1, p. 184-191, 2015.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. (Documentos, n. 283). 83p.

KAZEMI, M. Effect foliar application of humic acid and calcium chloride on tomato growth. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 3, n. 3, p. 41-46, 2014.

LAGOMARSINO, A.; GREGO, S.; KANDELER, E. Soil organic carbon distribution drives microbial activity and functional diversity in particle and aggregate-size fractions, **Pedobiologia**, v. 55, p. 101-110, 2012.

LI, L.; LI, L.; WANG, X.; ZHU, P.; WU, H.; QI, S. Plant growth-promoting endophyte *Piriformospora indica* alleviates salinity stress in *Medicago truncatula*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 119, p. 211-223, 2017.

LI, Y.; FANG, F.; WEI, J.; WU, X.; CUI, R.; LI, G.; ZHENG, F.; TAN, D. Humic Acid Fertilizer Improved Soil Properties and Soil Microbial Diversity of Continuous Cropping Peanut: A Three-Year Experiment. **Scientific Reports**, v. 9, p. 1-9, 2019.

LIMA, S.L.; OLIVARES, F.L.; OLIVEIRA, R.R.; VEGA, M.R.G.; AGUIAR, N.O.; CANELAS, L.P. Root exudate profiling of maize seedlings inoculated with *Herbaspirillum seropedicae* and humic acids. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1-18, 2014.

LIN, S. M.; TSAI, J. Y.; HSIAO, C. D.; HUANG, Y. T.; CHIU, C. L.; LIU, M. H.; TUNG, J. Y.; LIU, T. H.; PAN, R. L.; SUN, Y. J. Crystal structure of a membrane-embedded H⁺-translocating pyrophosphatase. **Nature**, v. 484, p. 399–403, 2012.

LIU, H.; ZHANG, C.; WANG, J.; ZHOU, C.; FENG, H.; MAHAJAN, M. D.; HAN, X. Influence and interaction of iron and cadmium on photosynthesis and antioxidative enzymes in two rice cultivars, **Chemosphere**, v.171, p. 240-247, 2017.

LIU, W.; TAN, M.; QU, P.; HUO, C.; LIANG, W.; LI, R.; JIA, Y.; FAN, X.; CHENG, C. Use of *Piriformospora indica* to Promote Growth of Strawberry Daughter Plants. **Horticulturae**, v. 370, n. 8, p. 1-11, 2022.

LU, J., YIN, Z.; LU, T.; YANG, X.; WANG, F.; QI, M.; LI, T.; LIU, Y.; Cyclic electron flow modulate the Linear electron flow and Reactive oxygen species in tomato leaves under high temperature. **Plant Science**, v. 292, 2020.

LÜDTKE, A. C.; DICK, D. P.; MOROSINO, L.; KRAEMER, V. Productivity of lettuce in greenhouse as affected by humic and fulvic acids application in association to mineral fertilizer. **Horticultura Brasileira**, v. 39, n. 4, p. 444-450, 2021.

MAIA JÚNIOR, S. O.; ANDRADE, J. R.; SANTOS, C. M.; SILVA, A. L. J.; ENDRES, L.; SILVA, J. V.; SILVA, L. K. S. Osmoregulators' accumulation minimizes the effects of drought stress in sugarcane and contributes to the recovery of photochemical efficiency in photosystem II after rewatering. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 42, n. 4, p. 1-11, 2020.

MAJI, D.; MISRA, P.; SINGH, S.; KALRA, A. Humic acid rich vermicompost promotes plant growth by improving microbial community structure of soil as well as root nodulation and mycorrhizal colonization in the roots of *Pisum sativum*. **Applied Soil Ecology**, v. 110, p. 97-108, 2017.

MAN-HONG, Y.; LEI, Z.; SHENG-TAO, X.; MCLAUGHLIN, N. B.; JING-HUI, L.; Effect of water soluble humic acid applied to potato foliage on plant growth, photosynthesis characteristics and fresh tuber yield under different water déficits. **Scientific Reports**, v. 10, p. 1-10, 2020.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Registro Nacional de Cultivares**. Disponível em: https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php. Acesso em: 10 mar. 2022.

MARQUES JÚNIOR, R. B. **Potencial do uso combinado de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas para bioestimulação de plantas**. 2006. 88f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, UENF, Campos dos Goytacazes.

MELO, A. P.; OLIVARES, F. L.; MÉDICI, L. O.; TORRES-NETO, A.; DOBBS, L. B.; CANELLAS, L. P. Mixed rhizobia and *Herbaspirillum seropedicae* inoculations with humic acid-like substances improve water-stress recovery in common beans. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v.4, n.6, p.1-9, 2017.

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMARKERS, J. M. The rizhosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and humam pathogenic microorganisms. **Federation of European Microbiological Societies**, Oxford, v. 37, p. 634-663, 2013.

MITTLER, R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 1, p. 15–19, 2006.

MORA, V.; BAIGORRI, R.; BACAICOA, E.; ZAMARREÑO, A. M.; GARCÍA-MINA, J. M. The humic acidinduced changes in the root concentration of nitric oxide, IAA and ethylene do not explain the changes in root architecture caused by humic acid in cucumber. **Environmental and Experimental Botany**, v. 76, p. 24-32, 2012.

MOREIRA, B. C.; MENDES, F. C.; MENDES, I. R.; PAULA, T. A.; PRATES JUNIOR, P.; SALOMÃO, L. C. C.; STURMER, S. L.; OTONI, W. C.; GUARÇONI, A. M.; KASUYA, M. C. M. The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and Piriformospora indica improves the growth and nutrient uptake in micropropagation-derived pineapple plantlets. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 183-192, 2015.

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

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: Diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

MURCHIE, E. H.; LAWSON, T. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 13, p. 3983–3998, 2013.

MUSCOLO, A.; SIDARI, M. Carboxyl and phenolic humic fractions affect *Pinus nigra* callus growth and metabolism. **Soil Science Society of America Journal**, v. 73, n. 4, p. 1119-1129, 2009.

NARAYAN, O. P.; VERMA, N.; JOGAWAT, A.; DUA, M.; JOHRI, A. K. Sulfur transfer from the endophytic fungus *Serendipita indica* improves maize growth and requires the sulfate transporter SiSulT. **The Plant Cell**, v. 33, n. 4, p. 1268–1285, 2021.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; RENIERO, F.; RASCIO, N. Chemical and biochemical properties of humic substances isolated from forest soils and plant growth. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, p. 639-645, 2000.

NASSAR, R. M. A.; AHMED, Y. M.; BOGHDADY, M. Botanical studies on *Phaseolus vulgaris* L. I-Morphology of Vegetative and Reproductive Growth. **International Journal of Botany**, v. 6, p. 323-333, 2010.

NAUTIYAL, C. S.; CHAUHAN, P. S.; DASGUPTA, S. M.; SEEM, K.; VARMA, A.; STADDON, W. J. Tripartite interactions among *Paenibacillus lentimorbus* NRRL B-30488, *Piriformospora indica* DSM 11827, and *Cicer arietinum* L. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, p. 1393–1399, 2010.

NAWROCKI, W. J.; BAILLEUL, B.; PICOT, D.; CARDOL, P.; RAPPAPORT, F.; WOLLMAN, F. A.; JOLIOT, P. The mechanism of cyclic electron flow. **Biochim Biophys Acta Bioenerg.** V. 1860, n. 5, p. 433-438, 2019.

NGWENE, B.; BOUKAIL, S.; SÖLLNER, L.; FRANKEN, P.; LINARES, D. R. A. Phosphate utilization by the fungal root endophyte *Piriformospora indica*. **Plant and Soil**, v. 405, p. 231-241, 2016.

NOGALES, A.; AGUIRREOLEA, J.; MARIA, E. S.; CAMPRUBI, A.; CALVET, C. Response of mycorrhizal grapevine to *Armillaria mellea* inoculation: disease development and polyamines. **Plant and Soil**, v. 317, p.177-187, 2009.

OELMÜLLER, R.; SHERAMETI, I.; TRIPATHI, S.; VARMA, A. *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. **Symbiosis**, v. 49, p. 1–17, 2009.

OLAETXEA, M.; HITTA, D.; GARCIA, C. A.; FUENTES, M.; BAIGORRI, R.; MORA, V.; BERBARA, R. L. Hypothetical framework integrating the main mechanisms involved in the

promoting action of rhizospheric humic substances on plant root-and shoot-growth. **Applied Soil Ecology**, v. 123, p. 521-537, 2018.

OLDROYD, G. E. D. Speak, friend, and enter: signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. **Nature Reviews Microbiology**, v.11, p.252-263, 2013.

OLIVARES, F. L.; AGUIAR, N. O.; ROSA, R. C. C.; CANELLAS, L. P. Substrate biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes. **Scientia Horticulturae**, v. 183, n. 1, p. 100-108, 2015.

OLIVARES, F. L.; BUSATO, J. G.; PAULA, A. M.; LIMA, L. S.; AGUIAR, N. O.; CANELLAS, L. P. Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 4, n. 30, p. 1-13, 2017.

OLIVEIRA, F. A.; MEDEIROS, J. F.; ALVES, R. C.; LIMA, L. A.; SANTOS, S. T.; RÉGIS, L. R. L. Produção de feijão caupi em função da salinidade e regulador de crescimento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 11, p. 1049-1056, 2015.

PHILLIPS, J. M., HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 55, p. 158-161. 1970.

PICCOLO, A. **Humus and soil conservation**. In: PICCOLO, A. (eds). Humic substances in terrestrial ecosystems. Amsterdam, Elsevier, p. 225-264, 1996.

PINHEIRO, G. L.; SILVA, C. A.; FURTINI NETO; A. E. Crescimento e nutrição de clone de eucalipto em resposta à aplicação de concentrações de C-ácidos húmicos. **Revista Brasileira Ciência Solo**, v. 34, p. 1217-1229, 2010.

PINOS, N. Q.; BERBARA, R. L. L.; ELIAS, S. S.; CASTRO, T. A. V. T.; GARCÍA, A. C. Combination of Humic Substances and Arbuscular Mycorrhizal Fungi Affecting Corn Plant Growth. **Journal of Environmental Quality**, v. 48, n. 6, p. 1594-1604, 2019.

QIANG, X.; WEISS, M.; KOGEL, K.H.; SCHÄFER, P. *Piriformospora indica* - a mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, p. 508-518, 2011.

RADY, M. M.; EL-MAGEED, T. A. A.; ABDURRAHMAN, H. A.; MAHDI, H. Humic acid application improves field performance of cotton (*Gossypium barbadense* L.) under saline conditions. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 26, n. 2, p. 487-493, 2016.

RAI, M.; RATHOD, D.; AGARKAR, G.; DAR, M.; BRESTIC, M.; PASTORE, G. M.; JUNIOR, M. R. M. Fungal growth promotor endophytes: A pragmatic approach towards sustainable food and agriculture. **Symbiosis**, v. 62, n. 2, p. 63-79, 2014.

RAYLE, D.L.; CLELAND, R.E. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. **Plant Physiol**, v. 99, n. 4, p.1271-1274, 1992.

ROTT, M.; MARTINS, N. F.; THIELE, W.; LEIN, W.; BOCK, R.; KRAMER, D. M.; SCHÖTTLER, M. A. ATP synthase repression in tobacco restricts photosynthetic electron transport, CO₂ assimilation, and plant growth by overacidification of the thylakoid lumen. **The Plant Cell**, v. 23, p. 304–321, 2011.

SABRA, M.; ABOULNASR, A.; FRANKEN, P.; PERRECA, E.; WRIGHT, L. P.; CAMEHL, I. Beneficial root endophytic fungi increase growth and quality parameters of sweet basil in heavy metal contaminated soil. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1726, 2018.

SADDIQUE, M. A. B.; ALI, Z.; KHAN, A. S.; RANA, I. A.; SHAMSI, I. H. Inoculation with the endophyte *Piriformospora indica* significantly affects mechanisms involved in osmotic stress in rice. **Rice**, v. 34, n. 11, p. 1-12, 2018.

SANTOS, J. B.; GAVILANES, M. L. **Botânica**. In: Vieira, C.; Júnior, T. J. P.; Borém. (Ed.). Feijão. 2^a edição, p.41-65. UFV, 2011.

SATO, R.; OHTA, H.; MASUDA, S. Prediction of respective contribution of linear electron flow and PGR5-dependent cyclic electron flow to non-photochemical quenching induction. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 81, p. 190-196, 2014.

SCHIAVON, M.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; VACCARO, S. High Molecular Size Humic Substances Enhance Phenylpropanoid Metabolism in Maize (*Zea mays* L.). **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, n. 6, p. 662-669, 2010.

SEYEDBAGHERI, M. M. Influence of humic products on soil health and potato production. **Potato Research**, v.53, p.341-349, 2010.

SHAHOLLARI, B.; VARMA, A.; OELMÜLLER R. Expression of a receptor kinase in Arabidopsis roots is stimulated by the basidiomycete *Piriformospora indica* and the protein accumulates in Triton X-100 insoluble plasma membrane microdomains. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, n. 8, p. 945-958, 2005.

SHAVRUKOV, Y.; HIRAI, Y. Good and bad protons: genetic aspects of acidity stress responses in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 1, p. 15-30, 2016.

SHEN, J.; GUO, M-J.; WANG, Y-G.; YUAN, X-Y.; WEN, Y-Y.; XI-E SONG, X-E.; SHU-QI DONG, S-Q.; GUO, P-Y. Humic acid improves the physiological and photosynthetic characteristics of millet seedlings under drought stress. **Plant Signaling & Behavior**, v. 15, n. 8, p. 1-13, 2020.

SHERAMETI, I.; SHAHOLLARI, B.; VENUS, Y.; ALTSCHMIED, L.; VARMA, A.; OELMÜLLER, R. The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme glucan-water dikinase in tobacco and Arabidopsis roots through a homeodomain transcription factor that binds to a conserved motif in their promoters. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 28, 26241-26247, 2005.

SHERAMETI, I.; TRIPATHI, S.; VARMA, A.; OELMULLER, R. The root-colonizing endophyte *Pirifomospora indica* confers drought tolerance in Arabidopsis by stimulating the expression of drought stress–related genes in leaves. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 21, n. 6, p. 799-807, 2008.

STAAL, M.; CNODDER, T.; SIMON, D.; VANDENBUSCHE, F.; STRAETEN, D. V. D.; VERBELEN, J. P.; ELZENGA, T.; VISSENBERG, K. Apoplastic Alkalinization Is Instrumental for the Inhibition of Cell Elongation in the Arabidopsis Root by the Ethylene Precursor 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid. **Plant Physiology**, v. 155, n. 4, p. 2049–2055, 2011.

SILVA, A. C.; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. P.; DOBBSS, L. B.; AGUIAR, N. O.; FRADE, D. A. R.; REZENDE, C. E.; PERES, L. E. P. Promoção do crescimento radicular de plântulas de tomateiro por substâncias húmicas isoladas de turfeiras. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 5, p. 1609-1617, 2011.

SILVA, H. T.; COSTA, A. O. **Caracterização Botânica de Espécies Silvestres do Gênero Phaseolus L. (Leguminosae)**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA-CNPAP, 2003, 40 p. (Documentos, 156).

SILVA, C. C.; SILVEIRA, P. M. da. Influência de sistemas agrícolas na resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) irrigado à adubação nitrogenada em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 30, n. 1, p. 86-96, 2000.

SILVA, C. C.; DEL PELOSO, M. J. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro comum na Região Central-brasileira 2005-2007**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 139 p. Documentos, 193.

SILVA, M. A. C.; SANTOS, W. O.; SIMOURA, N. T.; TESCH, J. A.; RUAS, K. F.; COLODETE, C. M.; TANNURE, F. P.; BARBIRATO, J. O.; RAMOS, A. C.; DOBBSS, L. B. Ácidos húmicos de vermicomposto estimulam o crescimento in vitro de plântulas de *Cattleya warneri* (Orchidaceae). **Rodriguésia**, v. 66, n. 3, p. 759-768, 2015.

SU, Z.; WANG, T.; SHRIVASTAVA, N.; CHEN, Y.; LIU, X.; SUN, C.; YIN, Y.; GAO, Q.; LOU, B. *Piriformospora indica* Promotes Growth, Seed Yield and Quality of *Brassica napus* L. **Microbiological Research**, v. 199, p. 29-39, 2017.

SZE, H.; CHANROJ, S. Plant Endomembrane Dynamics: Studies of K⁺/H⁺ Antiporters Provide Insights on the Effects of pH and Ion Homeostasis. **Plant Physiology**, v. 177, n. 3, p. 875–895, 2018.

SZE, H.; CHANROJ, S. Plant Endomembrane Dynamics: Studies of K⁺/H⁺ Antiporters Provide Insights on the Effects of pH and Ion Homeostasis. **Plant Physiology**, v. 177, n. 3, p. 875–895, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia vegetal**. 5. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TAKAHASHI, S.; BADGER, M. R. Photoprotection in plants a new light on Photosystem II damage. **Trends in plant science**, v. 16, p. 53-60, 2011.

TAVARES, O. C. H., SANTOS, L. A.; ARAÚJO, O. J. L.; BUCHER, C. P. C.; GARCÍA, A. C.; ARRUDA, L. N.; SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Humic acid as a biotechnological

alternative to increase N-NO₃⁻ or N-NH₄⁺ uptake in rice plants. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, p. 101226, 2019.

TAVARES, O. C. H.; SANTOS, L. A.; FERREIRA FILHO, D.; FERREIRA, L. M.; GARCÍA, A. C.; CASTRO, T. A. V. T.; ZONTA, E.; PEREIRA, M. G.; FERNANDES, M. S. Response surface modeling of humic acid stimulation of the rice (*Oryza sativa* L.) root system. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 67, n. 8, p. 1046-1059, 2020.

TAKAGI, D.; AMAKO, K.; HASHIGUCHI, M.; FUKAKI, H.; ISHIZAKI, K.; GOH, T.; FUKAO, Y.; SANO, R.; KURATA, T.; DEMURA, T.; SAWA, S.; MIYAKE, C. Chloroplastic ATP synthase builds up a proton motive force preventing production of reactive oxygen species in photosystem I. **Plant Journal**, v. 91, n. 2, p. 306-324, 2017.

TIKHONOVA, V. V.; YAKUSHEVA, A. V.; ZAVGORODNYAYA, Y. A.; BYZOV, B. A.; DEMIN, V. V. Effects of Humic Acids on the Growth of Bacteria. **Eurasian Soil Science**, v. 43, n. 3, p. 305-313, 2010.

TREVISAN, S.; BOTTON, A.; VACCARO, S.; VEZZARO, A.; QUAGGIOTTI, S.; NARDI, S. Humic substances affect Arabidopsis physiology by altering the expression of genes involved in primary metabolism, growth and development. **Environmental and Experimental Botany**, v. 74, p. 45-55, 2011.

TOWNSEND, A. J.; SACCON, F.; GIOVAGNETT, V.; WILSON, S.; UNGERER, P.; RUBAN, A. V. The causes of altered chlorophyll fluorescence quenching induction in the Arabidopsis mutant lacking all minor antenna complexes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics**, v. 1859, n. 9, p. 666-675, 2018.

UNNIKUMAR, K. R.; SOWJANYA, S. K.; VARMA, A. *Piriformospora indica*: a versatile root endophytic symbiont. **Symbiosis**, v. 60, p. 107-113, 2013.

VARMA, A.; BAKSHI, M.; LOU, B.; HARTMANN, A.; OELMUELLER, R. *Piriformospora indica*: A Novel Plant Growth-Promoting Mycorrhizal Fungus. **Agricultural Research**, v. 1, n. 2, p. 117-131, 2012.

VARMA, A.; VERMA, S.; SAHAY, N., BÜTEHORN, B.; FRANKEN, P. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 6, 2741-2744, 1999.

VARMA, A.; SINGH, A.; SUDHA, M.; SAHAY, N. S.; SHARMA, J.; ROY, A.; KUMARI, M.; RANA, D.; THAKRAN, S.; DEKA, D.; BHARTI, K.; HUREK, T.; BLECHERT, O.; REXER, K. H.; KOST, G.; HAHN, A.; MAIER, W.; WALTER, M.; STRACK, D.; KRANNER, I. *Piriformospora indica*: a cultivable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. In: HOCK, B. (ed). The Mycota IX. Springer-Verlag, Berlin, Germany, p. 125-150, 2001.

VAUGHAN, D.; MALCOLM, R. E. **Influence of Humic Substances on Growth and Physiological Processes**. In: VAUGHAN, D., MALCOLM, R.VE. (eds) Soil Organic Matter and Biological Activity. Developments in Plant and Soil Sciences, v. 16., p. 37–75, 1985.

VELIKOVA, V.; PETROVA, N.; KOVÁCS, L.; PETROVA, A.; KOLEVA, D.; TSONEV, T.; TANEVA, S.; PETROV, P.; KRUMOVA, S. Single-Walled Carbon Nanotubes Modify

Leaf Micromorphology, Chloroplast Ultrastructure and Photosynthetic Activity of Pea Plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 1-18, 2021.

VERMA, S.; VARMA, A.; REXER, K. H.; HASSEL, A.; KOST, G.; SARBHOY, A.; BISEN, P.; BÜTEHORN, B.; FRANKEN, P. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a New Root-Colonizing Fungus. **Mycologia**, v. 90, p. 896-903, 1998a.

VERMA, S.; VARMA, A.; REXER, K. H.; HASSEL, A.; KOST, G.; SARABHOY, A.; BISEN, P.; BÜTENHORN, B.; FRANKEN, P. *Piriformospora indica* Sav. **Mycologia**, v. 90, p. 896-903, 1998b.

VERMA, N.; NARAYAN, O. P.; PRASAD, D.; JOGAWAT, A.; PANWAR, S. L.; DUA, M.; JOHRI, A. K. Functional characterization of a high-affinity iron transporter (PiFTR) from the endophytic fungus *Piriformospora indica* and its role in plant growth and development. **Environmental Microbiology**, v. 24, n. 2, p. 689-706, 2022.

VIEIRA, C.; BORÉM, A.; RAMALHO, M. A. P.; CARNEIRO, J. E. S. **Melhoramento do feijão**. In: BORÉM, A. (Ed.). Melhoramento de espécies cultivadas. 2 ed. Viçosa: UFV, 2005, p. 301-391.

VIEIRA, C.; JUNIOR, T.; BORÉM, A. **Feijão**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. 600p.

VIGANI, G., ZOCCHI, G., BASHIR, K., PHILIPPAR, K., BRIAT, J.F. Signals from chloroplasts and mitochondria for iron homeostasis regulation. **Trends in Plant Science**, v. 18, n. 6, p. 305-311, 2013.

XIA, Y.; ZHANG, M.; TSANG, D. C. W.; GENG, N.; LU, D.; ZHU, L.; IGALAVITHANA, A. D.; DISSANAYAKE, P. D.; RINKLEBE, L.; YANG, X.; SIK, Y. Recent advances in control technologies for non-point source pollution with nitrogen and phosphorous from agricultural runoff: current practices and future prospects. **Applied Biological Chemistry**, Korea, v. 63, n. 1, 2020.

WANG, D., HUANG, G., DUAN, H., LEI, X., LIU, W., WU, J., FAN, H. Effects Of Drought And Nitrogen Addition On Growth And Leaf Physiology Of Pinus Massoniana Seedlings. **Pakistan Journal of Botany**, v. 51, n. 5, p. 1575–1585, 2019.

WEIß, M.; WALLER, F.; ZUCCARO, A.; SELOSSE, M. A. Sebacinales - one thousand and one interactions with land plants. **New Phytologist**, v. 211, n. 1, p. 20-40, 2016.

YANG, Y. J.; ZHANG, S. B.; WANG, J. H.; HUANG, W. The decline in photosynthetic rate upon transfer from high to low light is linked to the slow kinetics of chloroplast ATP synthase in *Bletilla striata*. **Photosynthesis Research**, v. 144, p. 13-21, 2020.

YAMORI, W.; SHIKANAI, T. Physiological Functions of Cyclic Electron Transport Around Photosystem I in Sustaining Photosynthesis and Plant Growth. **Annual Review of Plant Biology**, v. 67, p. 81-106, 2016.

ZANDONADI, D. B.; CANELLAS, L. P.; FAÇANHA, A. R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H⁺ pumps activation. **Planta**, v. 225, p. 1583-1595, 2007.

ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; DOBBSS, L. B.; OLIVARES, F. L.; CANELLAS, L. P.; BINZEL, M. L.; OKOROKOVA-FAÇANHA, A. L.; FAÇANHA, A. R. Nitric oxide mediates humic acids-induced root development and plasma membrane H⁺-ATPase activation. **Planta**, v. 231, p. 1025-1036, 2010.

ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; BUSATO, J. G.; PERES, L. E. P.; FAÇANHA, A. R. Plant physiology as affected by humified organic matter. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 25, n. 1, p. 12-25, 2013.

ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; MEDICI, L. O.; SILVA, J. Ação da matéria orgânica e suas frações sobre a fisiologia de hortaliças. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 14-20, 2014.

ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; CAIXETA, L. S.; MARINHO, E. B.; PERES, L. E. P.; FAÇANHA, A. R. Plant proton pumps as markers of biostimulant action. **Scientia Agricola**, v. 73, n. 1, p. 24-28, 2016.

ZANDONADI, D. B.; MATOS, C. R. R.; CASTRO, R. N.; SPACCINI, R.; OLIVARES, F. L.; CANELLAS, L. P. Alkamides: a new class of plant growth regulators linked to humic acid bioactivity. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 23, n. 6, p. 1-12, 2019.

ZANIN, L.; TOMASI, N.; ZAMBONI, A.; SEGA, D.; VARANINI, Z.; PINTON, R. Water-extractable humic substances speed up transcriptional response of maize roots to nitrate. **Environmental and Experimental Botany**, v. 147, p. 167-178, 2018.

ZANIN, L.; TOMASI, N.; CESCO, S.; VARANINI, Z.; PINTON, R. Humic substances contribute to plant iron nutrition acting as chelators and biostimulants. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 1-10, 2019.

ZAVARZINA, A. G.; ZAVARZIN, G. A. Humic Substances in the Early Biosphere. **Paleontological Journal**, v. 47, n. 9, p. 984-988, 2013.

ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGENBERGER, G.; KAISER, K.; LEHMANN, J.; MIANO, T.M.; MILTNER, A.; SCHROTH, G. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. **Geoderma**, v. 79, p. 117-161, 1997.

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

ZHANG, W.; WANG, J.; XU, L.; WANG, A.; HUANG, L.; DU, H.; QIU, L.; OELMÜLLER, R. Drought stress responses in maize are diminished by *Piriformospora indica*. **Plant Signaling & Behavior**, v. 13, n. 1, p. 1-38, 2017.

ZUCCARO A.; LAHRMANN, U.; GÜLDENER, U.; LANGEN, G.; PFIFFI, S.; BIEDENKOPF, D.; WONG, P.; SAMANS, B.; GRIMM, C.; BASIEWICZ, M.; MURAT, C.; MARTIN, F.; KOGEL, K. H. Endophytic Life Strategies Decoded by Genome and Transcriptome Analyses of the Mutualistic Root Symbiont *Piriformospora indica*. **PLoS Pathogens**, v. 7, n. 10, p. 1-26, 2011.