



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**LEVEDURAS E *TRICHODERMA* NA REDUÇÃO DA SEVERIDADE
DA MURCHA-DE-FUSÁRIO EM FEIJÃO-CAUPI**

Francisca Nívia Teixeira da Silva

Recife – PE

2014

FRANCISCA NIVIA TEIXEIRA DA SILVA

**LEVEDURAS E *TRICHODERMA* NA REDUÇÃO DA SEVERIDADE DA
MURCHA-DE-FUSÁRIO EM FEIJÃO-CAUPI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Dr^o. Delson Laranjeira

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rejane Pereira Neves

RECIFE-PE

JULHO-2014

Ficha catalográfica

S586L Silva, Francisca Nívia Teixeira da
Leveduras e Trichoderma na redução da severidade da
murcha-de-fusário em feijão-caupi / Francisca Nívia
Teixeira da Silva. – Recife, 2014.
55 f. : il.

Orientador: Delson Laranjeira.
Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento
de Agronomia, Recife, 2014.
Referências.

1. Biocontrole 2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*
3. *Vigna unguiculata* I. Laranjeira, Delson, orientador
II. Título

CDD 632

**LEVEDURAS E *TRICHODERMA* NA REDUÇÃO DA SEVERIDADE DA
MURCHA-DE-FUSÁRIO EM FEIJÃO-CAUPI**

FRANCISCA NIVIA TEIXEIRA DA SILVA

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 28 / 07 / 2014

ORIENTADOR:

Prof.º Drº. Delson Laranjeira (UFRPE)

EXAMINADORES:

Prof.ª Drª Rejane Pereira Neves (UFPE)

Prof.ª Drª Elineide Barbosa de Sousa (UFRPE)

Drª. Viviane Maria da Silva (UFRPE)

**RECIFE-PE
JULHO-2014**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser tão fiel e presente em minha vida e a Nossa Senhora por guardar-me em seu manto sagrado.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao comitê de orientação nas pessoas do Prof^o. Dr^o Delson Laranjeira e Prof^a. Dr^a. Rejane Pereira Neves pela acolhida e ensinamentos durante o desenvolvimento da pesquisa.

Aos professores do Programa de Fitopatologia; Delson Laranjeira, Elineide Barbosa de Sousa, Gilvan Pio Ribeiro, Marcos Câmara, Rosa de Lima Ramos Mariano, Sônia Oliveira e Sami Michereff pela a dedicação com que transmitem os seus ensinamentos.

Aos Amigos do Laboratório de Fungos de solo nas pessoas de Adelmo e Viviane. E aos demais amigos queridos, Luana Maria, Christiane Costa, Carmen Lucia, Alain Denis, José María Garcette e Josiene Veloso.

Aos meus amigos de fé, irmãos-camarada Tamiris Joana e Emanuel Feitosa pelo o companheirismo e cumplicidade.

Aos Funcionários Darcy e Romildo pela a disponibilidade, ao Sr. Luiz Coelho pela a colaboração nos trabalhos em casa de vegetação.

Agradeço

À Deus por sua graça, presença constante em minha vida e realização de mais um projeto.

Dedico

Aos meus irmãos, Patrícia, Márcia e Cácio.

Ofereço

Aos meus queridos pais, Jurandir Pereira da Silva e Francisca Teixeira da Silva por toda dedicação e apoio incondicional.

SUMÁRIO

	Páginas
RESUMO GERAL.....	vii
GENERAL ABSTRACT.....	viii
CAPITULO I - Introdução Geral.....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
CAPITULO II - Leveduras e <i>Trichoderma</i> na redução da severidade da murcha-de-fusário em feijão-caupi	31
Resumo.....	33
Abstract	34
Introdução.....	35
Material e Métodos.....	36
Resultados e discussão.....	41
Conclusão.....	44
Referências.....	45
Tabelas.....	50
CONCLUSÕES GERAIS.....	55

RESUMO GERAL

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) é uma das principais leguminosas cultivadas no mundo. Apresenta grande relevância socioeconômica, principalmente, em países em desenvolvimento. No Brasil, esta leguminosa é cultivada predominantemente nas regiões Norte e Nordeste, apresentando baixo rendimento devido a diversos fatores dentre eles a murcha-de-fusário, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. O presente estudo teve como objetivos: selecionar isolados de leveduras com potencial de redução da severidade da murcha-de-fusário em feijão-caupi e avaliar a eficiência de isolados de *Trichoderma* no biocontrole de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em feijão-caupi. Ensaio com 45 isolados de leveduras oriundas de plantas de feijão-caupi foram realizados em casa de vegetação. Para tanto, sementes de feijão-caupi foram tratadas com suspensão de leveduras na concentração de 1×10^8 células/mL e plantadas em vasos contendo substrato previamente infestado com 50g do isolado de *Fusarium* (CMM-0732) cinco dias antes do plantio. Oito isolados de *T. asperellum* (T25, LCB72, LCB80, LCB71, LCB79, LCB292, LCB47TE e LCB48TE) foram avaliados em casa de vegetação no biocontrole de três isolados de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (CMM-0006, CMM-0013 e CMM-0732). O solo de plantio foi co-infestado com 8g de grãos de arroz colonizado por *Trichoderma* e 50g de substrato colonizado pelo patógeno. Após cinco dias da infestação do solo, foi realizado o plantio do feijão-caupi. A avaliação da severidade da doença dos experimentos com *Trichoderma* e leveduras ocorreu 21 dias após a semeadura. Dentre os isolados de leveduras avaliados, dez isolados foram responsáveis pela redução da severidade da doença. As leveduras *Pichia guiliermondii* (L45 e L44), *Candida kefyr* (L16), *Kluiveromyces lactis* (L33) e *Rhodotorula aurantiaca* (L30) apresentaram potenciais de redução da murcha-de-fusário por apresentarem índices de 68%, 52%, 60% 48%, e 40%, respectivamente. Quanto aos isolados de *Trichoderma*, estes não foram eficientes no biocontrole da murcha-de-fusário, além de causar efeitos deletérios as sementes e plântulas de feijão-caupi. O uso de leveduras demonstra ser uma ferramenta promissora no controle biológico de *Fusarium*.

Palavras-chave: biocontrole, *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, *Vigna unguiculata* L.

GENERAL ABSTRACT

Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) is an important crop grown legumes in the world. Presents great socioeconomic importance, especially in developing countries. In Brazil, this legume is grown predominantly in the North and Northeast regions, with low yields due to several factors, among them the Fusarium wilt, caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. The present study aimed to: select yeast isolates with potential to reduce the severity of Fusarium wilt in cowpea and evaluate the efficiency of *Trichoderma* biocontrol of *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* in cowpea. Trials with 45 yeast isolates originating from cowpea plants were conducted in a greenhouse. For this, seeds of cowpea were treated with yeast suspension at a concentration of 1×10^8 cells/mL and planted in pots containing substrate previously infested with 50g isolate of *Fusarium* (CMM-0732) five days before planting. Eight strains of *T. asperellum* (T25, LCB72, LCB80, LCB71, LCB79, LCB292, LCB47TE and LCB48TE) were evaluated in a greenhouse in biocontrol of three isolates of *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (CMM-0006, CMM and CMM-0013-0732). The soil planting was co-infested with 8g of rice grains colonized by *Trichoderma* and 50g of substrate colonized by pathogen. Five days after soil infestation, planting cowpea was realized. The assessment of disease severity of the experiments with *Trichoderma* and yeast occurred 21 days after sowing. Among the isolated yeast evaluated ten isolates were responsible for the reduction in disease severity. The yeast *Pichia guiliermondii* (L45 and L44), *Candida kefyri* (L16) *Kluiveromyces lactis* (L33), and *Rhodotorula aurantiaca* (L30) showed reduction potentials of Fusarium wilt by presenting rates of 68%, 52%, 60% 48 %, and 40%, respectively. As for the *Trichoderma* isolates, these were not effective in biocontrol of Fusarium wilt, cause deleterious effects by seeds and seedlings of cowpea. The use of yeast is shown to be a promising tool in biological control of *Fusarium*.

Key words: biocontrol, *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, *Vigna unguiculata* L.

CAPÍTULO I



Introdução Geral

LEVEDURAS E *TRICHODERMA* NA REDUÇÃO DA SEVERIDADE DA MURCHA-DE-FUSÁRIO EM FEIJÃO-CAUPI

INTRODUÇÃO GERAL

1. Feijão-caupi

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], também conhecido como feijão-de-corda ou feijão-macassar (FREIRE FILHO et al., 2011), é cultivado na Ásia, África e na América do Sul. É uma leguminosa de grande importância nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. No Brasil, é cultivado nas Regiões Norte, Nordeste, Sul e Sudeste (SEAB, 2013). No entanto, a predominância de cultivo ocorre na região semiárida do Nordeste brasileiro e em pequenas áreas da Amazônia (GONÇALVES, 2010). Contudo, nas últimas décadas, essa cultura tem se expandindo de forma mais intensa nas as regiões Centro-Oeste e Sudeste do Brasil (FREIRE FILHO et al., 2005).

O feijão-caupi é uma planta herbácea, autógama, anual, sendo considerada uma das leguminosas mais adaptadas e versátil, entre as espécies cultivadas (SINGH et al., 2002). Devido à rusticidade da espécie, é uma planta bem adaptada às condições de clima e solo da região e ao mesmo tempo possuidora de uma grande variabilidade genética (FREIRE FILHO et al., 2006). A cultura apresenta ciclo curto e baixa exigência hídrica (EMBRAPA, 2003), devido à adaptação à seca e a diferentes níveis de estresse, ao longo dos diversos estádios de desenvolvimento da cultura (PINHO; TÁVORA; GONÇALVES, 2005).

A predominância no cultivo de feijão-caupi em relação ao feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, ocorre devido a sua maior resistência ao calor e a escassez de água (GONÇALVES, 2010). A cultura exige um mínimo de 300 mm de precipitação ao longo do ciclo. As limitações hídricas estão mais relacionadas à distribuição pluvial do que à quantidade total de chuvas ocorridas durante o ciclo de cultivo. O déficit hídrico, próximo e anterior ao florescimento, pode ocasionar severa retração do crescimento vegetativo, limitando a produção (ABRASEM, 2013).

A cultura do feijão-caupi pode ser implantada em quase todos os tipos de solo, tanto de várzeas como de terra firme, porém, o seu melhor desenvolvimento ocorre em solos leves, profundos e com fertilidade média a alta (GONÇALVES, 2010). As temperaturas ótimas para o bom desenvolvimento da cultura estão na faixa de 18 °C a 34 °C. Temperaturas elevadas

prejudicam o crescimento e o desenvolvimento da cultura, exercendo influência sobre o abortamento de flores, vigeamento e retenção final de vagens, afetando, também, o número de sementes por vagem (ABRASEM, 2013).

Nos últimos anos, a produção de feijão-caupi vem adquirindo maior expressão econômica, e conseqüentemente, a ampliação das áreas de cultivo. Contudo, o Nordeste brasileiro ainda é responsável por um terço de toda a produção nacional de feijão-caupi (CASTELLETTI; COSTA, 2013). Dados disponíveis na FAO (2014) sobre a produção mundial de feijão-caupi em 2012, aponta a Nigéria (25.000,00 toneladas) como principal país produtor, em segundo vem o Níger (13.295,14 toneladas) e em terceiro, Burkina Faso (462, 285 toneladas) o que corresponde a 48%, 24%, e 8%, respectivamente. Juntas as três nações respondem por 80% da produção mundial de feijão-caupi seco. Os dados da FAO não contemplam a produção brasileira, possivelmente, por que o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2014) e o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2014) reconheça tecnicamente *P. vulgaris* (L) juntamente com *V. unguiculata* apenas como feijões. Contudo, dados da CONAB (2014) estimam que a produção brasileira de feijão-caupi referentes à safra de 2012/2013 foi de 352.000 toneladas.

Dentre os fatores de importância nas perdas da produtividade do feijão-caupi e na qualidade dos grãos produzidos, estão às doenças causadas por Vírus, Bactéria, Nematóides e Fungos (ATHAYDE SOBRINHO; VIANA; SANTOS, 2005). Dentre as fitoviroses, se destacam o mosaico severo do caupi (*Cowpea severe mosaic virus-CPSMV*), os mosaicos de Potyvirus (*Cowpea aphid-borne severe mosaic virus-CABMV*) e o mosaico dourado (*Bean common severe mosaic virus-BCMV*). Quanto às fitonematoses, o gênero *Meloidogyne* (Goeldi) é o de maior ocorrência na cultura. O crestamento bacteriano causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola* (Burkholder) Dye (ATHAYDE SOBRINHO; VIANA; SANTOS, 2005; PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO; ANDRADE, 2005) e a murcha de curtobacterium causada por *Curtobacterium flaccunfasciens* pv *flaccunfasciens* (Hedgges) Collins e Jonnes são as bacterioses de maior importância para a cultura do feijão-caupi (CASTRO et al., 2006).

Quanto as doenças fúngicas da parte aérea mais relacionadas com a cultura do feijão-caupi, as cercosporioses ocasionadas por *Mycosphaerella cruenta* Latham [*Pseudocercospora cruenta* (Sacc.) Deighton] e *Cercospora canescens* Ellis & G. Martin; as ferrugens causadas por *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unger; a antracnose ocasionada por *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Biosi & Cavara e a mancha-café causada por

Colletotrichum truncatum (Schewin.) Andrus & Moore são as que ocorre com maior frequência na cultura (PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO; ANDRADE, 2005).

Dentre os fungos habitantes do solo que atacam o feijão-caupi e acarretam perdas significativas na produtividade, seja pelo subdesenvolvimento da planta ou pela redução do estande da cultura, destacam-se, *Rhizoctonia solani* Kühn, *Sclerotium rolfsii* Sacc e *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (E. F. Smith) Snyder & Hansen, agentes causais da rizoctoniose, podridão do colo e murcha-de-fusário, respectivamente (ATHAYDE SOBRINHO; VIANA; SANTOS, 2005).

2. Murcha-de-fusário

A murcha-de-fusário em feijão-caupi foi relatada pela primeira vez nos Estados Unidos da América por Kendrick (1931), e constatada posteriormente no Canadá, Colômbia, Austrália, África Central, (HOLLIDAY, 1970), Nigéria (OYEKAN, 1977) e Brasil (RIOS, 1988).

O gênero *Fusarium* Link, compreende diversas espécies de fungos fitopatogênicos ou saprófitas habitantes do solo que se encontram amplamente distribuído em todo o mundo. Este gênero foi descrito pela primeira vez em 1809 pelo micologista alemão Link. Atualmente, está classificado na família Nectriaceae, ordem Hypocreales, classe Sordariomycetes, filo Ascomycota e Reino Fungi (INDEX FUNGORUM, 2014). As características morfológicas e patogênicas, somadas as variações fisiológicas e mutagênicas de *Fusarium* (SUMMERELL; SALLEN; LESLIE, 2003), tem levado a criação de um sistema taxonômico complexo dividido em seções, *formae speciales* e raças (LESLIE; SUMMERELL, 2006). Mais de 150 *formae speciales* já foram descritas no complexo de *F. oxysporum* Schlecht, e cada uma delas são representadas por grupos de isolados com habilidade para causar murcha em um ou mais hospedeiro específico (BAAYEN et al., 2000).

Existem quatro diferentes raças de *F.oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (EHLERS, 2001). As raças 1 e 2 foram descritas na Carolina do Sul (EUA) e ambas causam doença em feijão-caupi. No entanto, a raça 1 além de causar doença no feijão-caupi, também causa doença na soja [*Glycine max* (L.) Merrill.] e no crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvele) (ARMSTRONG; ARMSTRONG, 1950; RIGERT; FOSTER, 1987). A raça 3 foi descrita no Mississippi (EUA) (HARE,1957) e a raça 4 detectada na Califórnia (EUA), ambas causam doença em feijão-caupi (SMITH et al., 1999).

A espécie *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* é responsável por grandes perdas em campo na cultura de feijão-caupi. Elloy e Michereff (2003) registraram perdas no rendimento de sementes de feijão-caupi acima de 98,5%. Assunção et al. (2003) relataram perdas superiores a 89% no número de vagens produzidas em parcelas artificialmente infestadas com esta espécie de *Fusarium*.

A sintomatologia da murcha-de-fusário é caracterizada pela presença de folhas flácidas de coloração verde-pálida, com o progresso da doença essas folhas amarelecem e caem, culminando com a morte da planta. Os tecidos vasculares adquirem coloração castanho-escura podendo haver a formação de intumescências no colo da planta (ATHAYDE SOBRINHO et al., 2000). No campo, os sintomas da murcha-de-fusário em feijão-caupi tornam-se mais evidente somente após o início da formação das vagens, em virtude da maior demanda fisiológica da planta para a mobilização de reservas visando à formação e enchimento dos grãos (ALBUQUERQUE; COELHO; PEREZ, 2001). Fatores climáticos como luz e temperatura, assim como a idade da planta, influenciam a expressão da murcha-de-fusário no feijão-caupi (RIOS, 1988). A ocorrência dessa doença é mais frequente em regiões secas com altas temperaturas, apresentando sintomas mais severos em temperaturas próximas de 27 °C (ALLEN, 1983).

A disseminação de *F. oxysporum* f. sp. *tracheipilum* pode ocorrer pelo vento, via sementes, solo e material vegetal infectado (ARMSTRONG; ARMSTRONG, 1950; HOLLIDAY, 1970). A introdução em novas áreas de cultivo ocorre por meio de sementes infestadas, resíduos de culturas infectados ou ainda, por implementos agrícolas contaminados. *F. oxysporum* sobrevive no solo por vários anos mesmo na ausência de plantas hospedeiras e mediante a produção de estruturas de resistência, como os clamidosporos, o que dificulta de sobremaneira a sua erradicação (ASSUNÇÃO et al., 2003). Características físicas, químicas e biológicas do solo e da matéria orgânica, influenciam de sobremaneira a sobrevivência de *F. oxysporum* como saprófita (RIOS, 1988).

O controle da murcha-de-fusário requer a adoção de múltiplas estratégias de manejo, como uso de sementes sadias, rotação de culturas por longos períodos e a utilização de cultivares resistentes (CÂNDIDA et al., 2009). Embora, o uso de cultivares resistentes seja apontado com um manejo da doença, a obtenção parece ser geneticamente complexa sendo, portanto, uma característica difícil de ser conferida pelo melhoramento (Vieira Junior et al., 2010). Em estudos realizados por Noronha et al. (2013), dos 36 genótipos de feijão-caupi

avaliados quanto a resistência a *F. oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*, apenas dois foram altamente resistentes.

No desenvolvimento de uma agricultura alternativa e/ou sustentável, têm-se buscado novas medidas de proteção das plantas contra doenças, visando minimizar os efeitos negativos do uso de produtos químicos e aumentar a produção dos alimentos de melhor qualidade (POPIA et al., 2007). Muitos produtores estão utilizando com sucesso outros métodos de controle a fitopatógenos tais como; cultural, físico e biológico (STANGARLIN; KUHN; SCHWAN-ESTRADA, 2008). No entanto, o controle biológico tem sido apontado como um método promissor para minimizar o uso de agrotóxicos e promover a proteção das culturas, pois se baseia em procedimentos ambientalmente corretos que podem fazer parte de um sistema de controle integrado de doenças (PATEKOSKI; PIRES-ZOTTARELLI, 2010; GRIGOLETTI JR; SANTOS; AUER, 2000). Além disso, os bioprotetores apresentam-se como uma tecnologia alternativa para o controle de fitopatógenos, desenvolvimento de uma agricultura sustentável e proteção do meio ambiente (MACHADO et al., 2012; LUZ, 2001).

3. Controle biológico

Segundo Cook e Baker (1983), o controle biológico pode ser definido como “a redução da soma do inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, ou realizada por um ou mais organismos que não o homem”. No entanto, o controle biológico é utilizado principalmente com o significado de controle de um patógeno por um antagonista, o qual atua por meio de mecanismos como, antibiose, parasitismo, competição, predação e hipovirulência.

Nas atividades envolvendo o micoparasitismo, o agente de biocontrole apresenta ação direta sobre o patógeno ou seus propágulos, agindo por meio da predação (MILGROOM e CORTESI, 2004). Nas ações por meio da antibiose, os microrganismos produzem substâncias com atividades antibióticas, que em baixas concentrações matam ou intoxicam outros microrganismos (SHAHRAKI; HEYDARY; HASSANZADEH, 2009). A produção de metabólitos por agentes de biocontrole interferem no crescimento e nas atividades de patógeno. Enzimas líticas estão entre esses metabólitos que podem desagregar compostos poliméricos, que incluem quitina, proteínas, celulose, hemicelulose e DNA (ANDERSON; STOCKWELL; LOPER, 2004). A capacidade de competir pela ocupação de locais de infecção do patógeno é um requisito para qualquer agente de controle biológico. Para que o

controle seja adequado, espera-se que o agente controlador seja capaz de crescer de maneira mais eficiente que o patógeno no local de infecção. A predação é a interação entre dois ou mais organismos, onde um deles obtém o alimento do patógeno (BEDENDO; JR. MASSOLA, AMORIM, 2011).

Neste contexto, as leveduras surgem como uma nova classe de agentes de controle biológico que vem sendo bastante estudadas (EL-TARABILY, 2004; MACHADO; BETTIOL, 2010). Estudos recentes têm relatado que espécies de leveduras são antagonistas com potenciais no controle de fungos fitopatogênicos habitantes do solo (SCHILER et al., 2011).

As leveduras são ativas consumidoras de nutrientes, efetivas como colonizadoras de ferimento e, em alguns casos, indutoras de resistência do hospedeiro. Nestas circunstâncias, estes organismos agem no controle das doenças, preferencialmente, como protetores da infecção e não como curativos (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2000).

Diferentes mecanismos ou combinação de mecanismos podem estar envolvidos na supressão de diferentes doenças de plantas por leveduras, tais como, inibição do patógeno por compostos antimicrobianos, indução de mecanismo de resistência em plantas, degradação de toxinas e enzimas e, competição por espaço (EL-MEHALAWY, 2004). A habilidade de competir por espaço leva as leveduras a colonizar tecidos feridos e prevenir o estabelecimento de doenças (DROBY et al., 2009). A literatura relata o caso de *Candida oleophila* (Montrocher) que compete por nutrientes com *Penicillium digitatum* (Pers.) nas injúrias provocadas em citros e, com isso, previne a infecção pelo patógeno (BETTIOL et al., 2012). Além da competição por nutrientes, as leveduras também produzem enzimas líticas que interagem diretamente com as hifas fúngicas acarretando assim, a lise da parede celular dos mesmos (CASTORIA et al., 1997). Os mesmos autores também relataram a atividade de glucanases em dois isolados de leveduras na presença de *P. expansum* (Link) e *Botrytis cinerea* (Pers). Segundo Sharma; Maharshi e Gaur (2008), *Sporidiobolus pararoseus* (Fell & Tallman) produz toxinas capazes de inibir o crescimento de fungos.

Segundo Valdebenito-Sanhueza (2000), as principais leveduras utilizadas no biocontrole são *Aureobasidium* spp. Viala & G. Boyer; *Cryptococcus* spp. Kütz.; *Rhodotorula* spp. F. C. Harrison; *Saccharomyces* spp. Meyen e *Sporobolomyces* spp. Kluyver & C.B. Niel. Com a crescente pesquisa na área de controle biológico envolvendo leveduras, outros gêneros vêm se firmando como potentes agentes de biocontrole como é o caso de *Pichia guilliermondii* Wicker., onde vários trabalhos tem demonstrado seu importante papel no controle de vários fungos causadores de doenças na pós-colheita, tais como: *B. cinerea*

(WISNIEWSKI et al., 1991); *Rhizopus nigricans* Ehrenb., (ZHAO et al., 2008); *P. italicum* Wehmer (ARRAS et al., 1998) *P. digitatum* (DROBY et al., 1997) e *Colletotrichum capsici* (Syd.) (CHANCHAICHAOVIVAT; RUENWONGSA; PANIJPAN, 2007).

Trabalhos mostram que o potencial biocontrolador de *S. cerevisiae* Meyen à doenças de plantas decorre da sua ação direta sobre os fitopatógenos aliada aos mecanismos de antibiose, competição por espaço e nutrientes (PICCININ; DI PIERO; PASCHOLATI, 2005). Estes também são os mecanismos pelos quais *S. cerevisiae* atua no controle de *B. cinerea* (GOUVEA, 2009). Além disso, *S. cerevisiae* apresenta forte potencial na promoção de crescimento de plantas e, como agente de biocontrole do tombamento de plântulas de beterraba (*Beta vulgaris* L.) causada por *F. oxysporum* (SHALABY; EL NADY, 2008). *S. cerevisiae* e *C. sake* (Saito & M. Ota) apresentaram resultados significativos na redução da severidade de doenças provocadas por *Erysiphe betae* (Vaňha) Weltzien e *Cercospora beticola* (Sacc.), incrementaram o rendimento radicular e o teor de sacarose da beterraba (ZEDAN; FARRAG, 2011). Rever o começo deste parágrafo.

Estudos realizados por Buck (2002) demonstraram que plantas de gerânio (*Pelargonium hortorum*) co-inoculadas com *B. cinerea* e *Rhodosporidium toruloides* (I. Banno) apresentaram redução no desenvolvimento de lesões causadas pelo patógeno. Em condições de estresse salino, sementes de milho tratadas com leveduras apresentaram taxas de germinação mais elevadas do que aquelas que não receberam o tratamento (NEW; YU; LATT, 2013). *Kluyveromyces waltii* (Kodama), *Pachytrichospora transvaalensis* e *Sacharromycopsis cataegensis* foram utilizadas como biofertilizante de solos cultivados com a cultura da beterraba. As plantas tratadas apresentaram maior crescimento, maior formação de pigmentos fotossintéticos e incremento na produção radicular (AGAMY; HASHEM; ALAMIR, 2013).

Produtos a base de *A. pullulans* (de Bary) G. Arnaud, *C. albidus* (Saito), e *Metschnikowia fructicola* (Kurtzman & Droby), são registrados em muitos países, como agentes de biocontrole de fitopatógenos (DROBY et al., 2009). Nos Estados Unidos e Israel, produtos a base de *A. pululans* são comercializados para o controle de *Erwinia amilovora* (Burrill). Na Alemanha, o mesmo produto é indicado para o controle da podridão de frutos na pós-colheita, causada por *Botrytis*, *Penicillium* e *Monilinia* Honey. Em Israel, produtos a base de *M. fructicola* (G. Winter) Honey são registrados e comercializados, sendo indicados para o uso em *packing house* ou no campo antes da colheita. Na África do sul, produtos a base de *C. albidus* são registrados e comercializados para uso na pós-colheita, sendo indicados para o

controle da podridão de frutos de maçã causada por *Botrytis* e *Penicillium* (BETTIOL et al., 2012).

Quanto a utilização de fungos miceliais no biocontrole de doenças de plantas, o gênero *Trichoderma* Pers é um dos mais pesquisados e estudados (MENEZES et al., 2010), sendo este utilizado com sucesso no controle de fitopatógenos habitantes do solo (HARMAN, 2006), em virtude dos diferentes mecanismos de ação envolvidos, tais como parasitismo, antibiose, competição e indução de resistência (WOO et al., 2006). Para *Trichoderma*, o parasitismo talvez seja o mecanismo de ação mais conhecido e documentado (BETTIOL, GHINI, 2005).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são de grande importância econômica para a agricultura, uma vez que são capazes de atuarem como agentes de controle de doenças de várias plantas cultivadas e possuem amplas possibilidades para aplicação, tanto no controle biológico de patógenos foliares, quanto de patógenos radiculares (SAITO et al., 2009). Espécies deste gênero ocorrem mundialmente e se encontram amplamente distribuídas em todos os tipos de solos e em habitats naturais que possuem matéria orgânica (SAMMUELS, 1996), sobrevivem saprofiticamente ou parasitando outros fungos (MELO, 1998). São micoparasitas eficazes no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, principalmente, aqueles que apresentam estruturas de resistência, tais como *Rhizoctonia* spp. DC., *Sclerotium* spp. Tode, *Sclerotinia* spp. Fuckel, *Pythium* spp. Pringsh., *Phytophthora* spp. De Bary, *Fusarium* spp. Link, (MELO, 1996), em virtude da produção de exoglucanases, endoglucanase, celobiase e quitinases que são importantes na degradação da parede celular de fungos (PAPAVIZAS, 1985).

Isolados de *Trichoderma* spp. são conhecidos pela habilidade de produzir enzimas que degradam celulose e quitina (HARMAN et al., 2004). De acordo com Mukherjee et al. (1995), *T. harzianum* parasita hifas e escleródios de *R. solani*. Além dos conhecidos efeitos de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de plantas, isolados de *Trichoderma* podem viver endofiticamente em várias espécies botânicas (CARVALHO FILHO et al., 2008), atuar na promoção de crescimento vegetal e indução de resistência das plantas contra doenças. A promoção de crescimento ocorre devido a capacidade das espécies em colonizar as raízes (HARMAN et al., 2004) e, também, pode ser devida à solubilização de nutrientes necessários às plantas (MACHADO et al., 2012). Espécies de *Trichoderma* podem ser potentes aliados no manejo integrado de patógenos de solo por se mostrarem tolerantes a presença de fungicidas (TAPWAL et al., 2012), capacidade para degradar compostos xenobióticos, e sobrevivência

em ambientes com moléculas remanescente de fungicida (CHAPARRO; CARVAJALAND; ORDUZ, 2011).

O gênero *Hypocrea*, pertencente à classe dos Ascomycetos, é aceito na literatura como o teleomorfo de *Trichoderma* (CHAVERRI; SAMUELS; STEWART, 2001). Contudo, estudos culturais comprovam que muitas espécies de *Hypocrea* produzem a forma conidial (*Trichoderma*), mas o oposto não é verdadeiro para a maioria das espécies (GAMS; DOMSCH; TRAUTE-HEIDI, 1980). As espécies de *Trichoderma* produzem conídios em abundância a partir de conidióforos que se formam diretamente da hifa. O micélio é formado por hifas hialinas, muito ramificadas e de parede lisa (MELO, 1998). A coloração da colônia em vários tons de verde é, normalmente, devido à pigmentação e quantidade dos conídios produzidos (MELO, 1991). As espécies de *Trichoderma* mais conhecidas são: *T. hamatum* (Bonord) Bainier, *T. viride* Pers, *T. aureoviride* Rifai, *T. harzianum* Rifai, *T. koningii* Oudem, *T. pseudokoning* Rifai, *T. longibrachiatum* Rifai (BETTIOL; GHINI, 2005), e *T. asperellum* Samuels, Liickf. & Niremberg (BETTIOL et al., 2012).

Estudos envolvendo características morfológicas, culturais e fisiológicas, realizados com espécies descritas como *T. viride* permitiram separar a espécie *T. asperellum* desse grupo. As principais características morfológicas observadas para a nova espécie formam conidióforos regularmente ramificados e, a presença de clamidosporos quase sempre terminais e raramente intercalares. Quanto às características culturais, a espécie apresenta colônias com anéis concêntricos, produção conidial densa e coloração verde escura, odor, difusão de pigmento no meio e temperatura ótima (30 °C) para crescimento em meio BDA (SAMUELS; LIECKFELDT; NIREMBERG, 1999). Atualmente a espécie *T. asperellum*, obedece à posição e classificação taxonômica seguinte; Hypocreacea, Hipocreales, Hypocreomycetidae, Sordariomycetes, Ascomycota e Fungi (INDEX FUNGORUM, 2014).

Pesquisas têm demonstrado que *T. asperellum* é considerado um importante biocontrolador devido a sua habilidade antagônica à fungos fitopatogênicos (YANG & XU, 2013), sendo utilizado no controle de um amplo espectro de fitopatógenos causadores de doenças em plantas, incluindo bactérias, nematóides e fungos (SAMUELS et al., 2010).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivos: selecionar isolados de leveduras com potencial de redução da severidade da murcha-de-fusário em feijão-caupi; avaliar a eficiência de isolados de *Trichoderma* no biocontrole de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em feijão-caupi.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS-ABRASEM . Disponível em: < <http://www.abrasem.com.br> >. Acesso em 02 jun. 2014.

AGAMY, R.; HASHEM, M.; ALAMRI, S. Effect of soil amendment with yeast as bio-fertilizers on the growth and productivity of sugar beet. **African journal agricultural research**, v. 8, n.1, p. 46-56, 2013.

ANDERSON, L. M.; STOCKWELL, V. O.; LOPER, J. E. An extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* inactivates antibiotics of *Pantoea agglomerans*. **Phytopathology**, Lancaster, v. 94, n.11, p. 1228-1234, 2004.

ALBUQUERQUE, M. P.; COELHO, R. S. B.; PEREZ, J. O. Avaliação de linhagens e cultivares de caupi (*Vigna unguiculata*) em relação à *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. **Caderno Ômega**, Recife, v. 10, p. 5-7, 2001.

ALLEN, D. J. **The pathology of tropical food legumes: disease resistance in crop improvement**. New York: John Willey & Sons, 1983. 413 p.

ARRAS, G.; DE CICCIO, V.; ARRU, S.; LIMA, G. Biocontrol by yeasts of blue mould of citrus fruits and the mode of action of an isolate of *Pichia guilliermondii*. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Kent, v.73, n. 3, p. 413-418, 1998.

ARMSTRONG, G. M.; ARMSTRONG, J. K. Biological raças de *Fusarium* causing wilt of cowpeas and soybeans. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 40, n. 2, p. 181-193, 1950.

ASSUNÇÃO, I. P.; MICHEREFF, S. J.; MIZUBUT, E. S. G.; BROMMONSCHENKEL, S. H. Influência da intensidade da murcha-de-fusário no rendimento do caupi. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 615-619, 2003.

ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F. M. P.; SANTOS, A. A dos. Doenças fúngicas e bacterianas. In: FREIRE FILHO, F. R; ARAUJO LIMA, J. A; RIBEIRO, V. Q. **Feijão caupi: Avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2005. cap. 12, p. 461-484.

BAAYEN, R. P.; O'DONNELL, K.; BONANTS, P. J. M.; CIGELNIK, E.; KROON, L. P. N. M.; ROEBROECK, E. J. A.; WALLWIJK, C. Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and non monophyletic *formae specialis* causing wilt and rot disease. **Ecology and population Biology**, v. 90, n. 8, p. 891-900, 2000.

BEDENDO, I. P.; JR. MASSOLA, N. S.; AMORIM, L. Controles cultural, físico e biológico In: AMORIM, L.; RESENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. v. 1, cap. 17, p. 367-388.

BETTIOL, W.; MORANDIR, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JUNIOR, T. J.; CORREA, E. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas. Jaguariúna: Embrapa meio ambiente, 2012. 156 p. (Documento 88).

BETTIOL, W.; GHINI, R. solos supressivos. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. cap. 6, p. 125-152.

BUCK, J.W. *In vitro* antagonism of *Botrytis cinerea* by phylloplane yeasts. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 80, n. 8, p. 885-891, 2002.

CÂNDIDA, D.V.; COSTA, C. G. J.; RAVA, C. A.; CARNEIRO, M. S. Controle genético da murcha do fusário (*Fusarium oxysporum*) em feijoeiro comum. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 6, p. 379-384, 2009.

CARVALHO FILHO, M. R.; MELLO, S. C. M. de; SANTOS, R. P. dos; MENÊZES, J. E. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido**

indolacético *in vitro* e colonização endofítica de mudas de Eucalipto. Brasília: Embrapa, 2008. 16 p. (EMBRAPA. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 226).

CASTELLETTI, C. H. M.; COSTA, A. F. Feijão-caupi: alternativa sustentável para os sistemas produtivos, **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife, v.18, n.1, p. 1-2, 2013.

CASTRO, J. L. de; ITO, M. F.; MARIGONI, A. C. BARLADIN, R. S.; Desafios ao controle de doenças na cultura do feijoeiro nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Doenças fúngicas do caupi. In: VI seminário sobre pragas, doenças e plantas daninhas no feijoeiro, 2006. Campinas. **Anais...** Instituto Agronômico de Campinas, 2006. p. 17-24.

CASTORIA, R.; CURTIS, F.; LIMA, G.; CICCIO, V. β -1, 3 glucanase activity of two saprophytic yeasts and possible mode of action as biocontrol agents against postharvest diseases. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 12, p. 293-300, 1997.

CHANCHAICHAOVIVAT, A.; RUENWONGSA, P.; PANIJPAN, B. Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: potential for biological control of postharvest chili anthracnose (*Colletotrichum capsici*). **Biological Control**, Orlando, v. 42, n. 3, p. 326-335, 2007.

CHAPARRO, A. P.; CARVAJAL, L. H.; ORDUZ, S. Fungicide tolerance of *Trichoderma asperelloides* and *Trichoderma harzianum* strain. **Agricultural Sciences**, v. 2, n. 3, p. 301-307, 2011.

CHAVERRI, P.; SAMUELS, G. J.; STEWART, E. L. *Hypocrea virens* sp. nov., the teleomorph of *Trichoderma virens*. **Mycologia**, New York, v. 93, n. 6, p. 1113-1124, 2001.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB . Disponível em: <http://conab.gov.br> >. Acesso em: 16 maio 2014.

COOK, R. J. BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens.** Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1983. 539p.

DROBY, S.; WISNIEWSKI, M.; MACARISIN, D.; WILSON, C. Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm? **Postharvest Biology and Technology**, Amstaerdan, v. 52, n. 2, p.137-145, 2009.

DROBY, S.; WISNIEWSKI, M. E.; COHEN, L.; WEISS, B.; TOUITOU, D.; EILAMY, Y.; CHALUTZ, E. Influence of CaCl₂ on *Penicillium digitatum*, grapefruit peel tissue, and biocontrol activity of *Pichia guilliermondii*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 3, p. 310-315, 1997.

EHLERS, J. Production and genetic improvement of dry grain cowpea in the USA. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DO CAUPI, n.5, 2001, Teresina. **Anais ... Teresina: Embrapa Meio-Norte**, 2001. p. 334-338. (Embrapa Meio-Norte. Documentos, 56).

ELLOY, A. P.; MICHEREFF, S. J. Redução no Rendimento do caupi em duas épocas de plantio devido à murcha-de-fusário. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 29, n. 4, p. 330-333, 2003.

EL-MEHALAWY, A. A. The rhizosphere yeast fungi as biocontrol agents for wilt disease of kidney bean caused by *Fusarium oxysporum*. **International journal of agriculture e biology**, v. 6, n. 2, p. 310-316, 2004.

EL-TARABILY, K. A. Supression of *Rhizoctonia solani* disease of sugar beet by antagonistic and plant growth-promoting yeasts. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 96, n. 1, p. 69-75, 2004.

EMBRAPA MEIO NORTE. **Cultivo do feijão-caupi**. Sistemas de Produção, 2. Versão Eletrônica. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoCaupi/autores.htm>. 2003.> Acesso em: 18 nov. 2013.

FAO.FAOSTAT-AGRICULTURAL STATISTIC DATA BASE.[online]. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 10 maio 2014.

FREIRE FILHO, RIBEIRO, V. Q.; F. R.; DE MOURA ROCHA, M.; SILVA, K. J. D.; da ROCHA NOGUEIRA, M. S. **Feijão-caupi no Brasil**: Produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Teresina: Embrapa meio norte, 2011. 84 p.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, C. A. F. Melhoramento genético de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] na região do Nordeste. Disponível em: <<http://www.cpatas.embrapa.br>>. Acesso em: 10 jan. 2006.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. dos. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F. R.; ARAUJO LIMA, J. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão caupi**: Avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2005. cap. 1, p. 27-92.

GAMS, W.; DOMSCH, K. H.; TRAUTE-HEIDI, A. **Compendium of soil fungi**. London, Academic Press. v. 1, 1980, 794p.

GONÇALVES, J. R. P. **ABC da Agricultura Familiar**: Cultivo do feijão-caupi na Amazônia Brasília, 2010. 15 p.

GOUVEA, A.; KUHN, O. J; MAZARO, S. M; MIO, L. L. M.; DESCHAMPS, C.; BIASI, L. A.; FONSECA, V. C. Controle de doenças foliares e de flores e qualidade pós-colheita do morangueiro tratado com *Saccharomyces cerevisiae*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 527-533, 2009.

GRIGOLETTI JR, A.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1/2, p. 155-165, 2000.

HARE, W. W. A new race of *Fusarium* causing wilt of cowpea. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 47, n. 3, p. 457-465, 1957.

HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.

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

HOLLIDAY, P. *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. **Kew**: Commonwealth Mycological Institute, 1970. 1p. (C. M. I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, 220).

INDEX FUNGORUM, 2014. Disponível em: < <http://www.indexfungorum.org> > Acesso em: 31 maio 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA -IBGE. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br> > Acesso em 5 jun. 2014.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* laboratory manual**. Ames: Blackwell, 2006. 388 p.

LUZ, W. C. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 16-20, 2001.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; DA SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v. 35, n. 1, p.274-299, 2012.

MACHADO, M. A. C. F.; BETTIOL, W. Potencial para o biocontrole de *Botrytis cinerea* por leveduras em sistema integrado de cultivo de lírio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n.6, p. 539-545, 2010.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, v. 1, p. 17-67, 1998.

MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, n.1, p. 261-295, 1996.

MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: CNPDA-EMBRAPA, 1991. 388p. (EMBRAPA. Documentos, 15.).

MENEZES, J. P. et al. Variabilidade genética na região its do rDNA de isolados de *Trichoderma* spp. (biocontrolador) e *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 132-139, 2010.

MILGROOM, M. G.; CORTESI, P.; Biological control of chestnut blight with hipovirulence: critical analysis. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 42, n.1, p.311-338. 2004.

MUKHERJEE, P. K.; MUKHOPADHYAY, A. N.; SARMAH, D. K.; SHRESTHA, S. M. Comparative antagonistic properties of *Gliocladium virens* and *Trichoderma harzianum* on *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* - its relevance to understanding the mechanisms of biocontrol. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.143, n. 5, p. 275-279, 1995.

NEW, M. T.; YU, S. S.; LATT, Z. K. Study on phosphate solubilization of tolerant soil yeast isoalates and effects on maize germination. **International journal of innovation e applied studies**, v. 4, n. 3, p. 524-33, 2013.

NORONHA, M. A.; LOPES, C. L. R. B.; OLIVEIRA, B. M. M.; VENTURA, H. P.; TORRES, R. J. A.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, K. J. D. Reação de genótipos de feijão-caupi a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. In: congresso nacional de feijão-caupi, 2013. Recife. **Anais...** Recife: III CONAC, 2013. p. 1-5.

OYEKAN, P. O. Ocurrência de cowpea wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* in Nigéria. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 59, n. 6, p. 488-490, 1977.

PAPAVIZAS, G. G. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, Palo alto, v. 23, p. 23-57, 1985.

PATEKOSKI E, K. S.; PIRES-ZOTTARELLI, C. L.A. Patogenicidade de *Pythium aphanidermatum* a alface cultivada em hidroponia e seu biocontrole com *Trichoderma*.

Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 45, n. 8, p. 805-810, 2010.

PICCININ, E. ; DI PIERO, R. M.; PASCHOLATI, S. F. Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na produtividade de sorgo e na severidade de doenças foliares no campo. **Fitopatologia**

Brasileira, Brasília, v. 30, n.1, p. 5-9, 2005.

PINHO, J. L. N.; TÁVORA, F. J. A. F.; GONÇALVES, J. A. Aspectos fisiológicos: Coleção ativa e de base. In: FREIRE FILHO, F. R.; DE ARAÚJO LIMA, J. A.; RIBEIRO, V. Q.

(Eds.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p.191-210.

PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F. M.; ANDRADE, G. P. Doenças do caupi (*Vigna unguiculata*). In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; RESENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, cap. 24, p. 215-222.

POPIA, A. F.; CIDADE JUNIOR, H. A.; HAMMERSCHMIDT, I. ; TOLEDO, M.V.; ASSIS, O. Manual de olericultura orgânica. Curitiba: Emater/Seab, 2007. 128p.

RIGERT, R. S.; FOSTER, K. W. Inheritance of resistance to two races of *fusarium* wilt in three cowpea cultivares. **Crop Science**, Madison, v. 27, n. 2, p. 220-224, 1987.

RIOS, G. P. Doenças fúngicas e bacterianas do caupi. In: ARAÚJO, J. P.; WATT, E. E. **O caupi no Brasil**. Brasília: EMBRAPA-IITA, 1988. p. 549-589.

SAITO, L. R.; SALES, L. L. S. R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M. S. de; REFFATTI, R. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v. 2, n.3, p. 203-208, 2009.

SAMUELS, G. J.; ISMAEL, A.; BON, M. C.; R. ESPINIS, S. de PETRINI, O. *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptis especies. **Mycologia**, New York, v. 102, n. 4, p. 944-966, 2010.

SAMUELS, G. J.; LIECKFELDT, E.; NIREMBERG, H. *Trichoderma asperellum*, a new especie with warted conidia, and redescription of *Trichoderma viride*. **Sydowia**, Horn, v. 5, n.1 p. 71-88, 1999.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma* review of biology and systematics of the genus. **Mycological Research**, Cambridge, v. 100, n. 8, p. 923-935, 1996.

SCHILER, D. A.; JANISIEWICZ, W. J.; BOECKHOUT, T.; KURTZMAN, C. Agriculturally important yeasts: Biological control of field and postharvest diseases using yeast antagonists, and yeast pathogens of plants. In: KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOECKHOUT, T. **The yeasts: a taxonomic study**. London: Elsevier, 2011, p. 4.

SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Feijão - Análise da Conjuntura Agropecuária**, 2013, 14 p.

SHAHRAKI, M.; HEYDARY, A.; HASSANZADEH, N. Investigation of antibiotic siderophore and volatile metabolites production by *Bacillus* and *Pseudomonas* bacteria. **Journal Biological**, v. 22, n.1, p.71-84, 2009.

SHALABY, M. E.; EL-NADY, M. F. Application of *Saccharomyces cerevisiae* as a biocontrol agent again *Fusarium* infection of sugar beet plants. **Acta Biologica Szegediensis**, v. 52, n. 2, p. 271-275, 2008.

SHARMA, R. N.; MAHARSHI, R. P.; GAUR, R. B. *Sporidiobolus pararoseus* Fell & Tallman, an antagonistic yeast with biocontrol potential. **Current Science**, Bangalore, v. 95, p. 1003-1004, 2008.

SINGH, B. B., EHLERS, J. D.; SHARMA, B.; FREIRE FILHO, F. R. Recent progress in cowpea breeding. In: FATOKUN, C. A.; TARAWALI, S. A.; SINGH, B. B.; KORMAWA,

P. M.TAMÒ, M. **Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production.** Ibadan: IITA, 2002. p.22-40.

SMITH, S. N.; HELMS, D. M.; TEMPLE, S. R.; FRATE, C. The distribution of *Fusarium* wilt of blackeyed cowpeas within California caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* race 4. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 83, n. 7, p. 694, 1999.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCWAN-ESTRADA, K. R. F. J. Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 16, p. 265-304, 2008.

SUMMERELL, B. A.; SALLEH, B.; LESLIE, J. F. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, n. 2, p.117-128, 2003.

TAPWAL, A.; KUMAR, R.; GAUTAM, N.; PANDEY, S. Compatibility of *Trichoderma viride* for selected fungicides na botanicals. **International journal of plant pathology**, v. 3, n. 2, p. 89-94, 2012.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Leveduras para o biocontrole de fitopatógenos In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa meio ambiente, 2000, p. 41-55.

YANG, P.; XU, Q. The biocontrole mechanisms of *Trichoderma asperellum* resistance plant pathogenic fungi. **Advanced materials research**. v. 726-731, p. 4525-4528, 2013.

WISNIEWSKI, M.; BILES, C.; DROBY, S.; McLAUGHLIN, R.; WILSON, C.; CHALUTZ, E. Mode of action of the postharvest biocontrol yeast, *Pichia guilliermondii*. I. characterization of attachment to *Botrytis cinerea*. **Physiological and molecular Plant Pathology**, London, v. 39, n. 4, p. 245-258, 1991.

WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp. phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 2, p. 181-185, 2006.

ZEDAN, E. H. E.; FARRAG, E. S. H. Application of yeasts as biocontrol agents for controlling foliar diseases on Sugar beet plants. **Journal of Agricultural Technology**, v.7, n. 6, p. 1789-1799, 2011.

ZHAO, Y.; TU, K.; SHAO, X.; JING, W.; SU, Z. Effects of the yeast *Pichia guilliermondii* against *Rhizopus nigricans* on tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, New York, v. 49, n. 1, p. 113-120, 2008.

CAPÍTULO II

**LEVEDURAS E *TRICHODERMA* NA REDUÇÃO DA SEVERIDADE DA
MURCHA-DE-FUSÁRIO EM FEIJÃO-CAUPI**

1 **Leveduras e *Trichoderma* na redução da severidade da murcha-de-fusário**
2 **em feijão-caupi**

3
4 Francisca Nívia Teixeira da Silva ⁽¹⁾, Emanuel Feitosa de Assunção ⁽¹⁾, Viviane Maria da
5 Silva ⁽¹⁾, Rejane Pereira Neves ⁽²⁾ e Delson Laranjeira ⁽¹⁾

6
7 ⁽¹⁾ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Área de
8 Fitossanidade, Laboratório de Fungos de Solos, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/nº, Dois
9 Irmãos, CEP-52171-900, Recife, PE, Brasil. E-mail: niviagronomia@yahoocom.br;
10 as_emanuel@hotmail.com, vmsilva.fito@gmail.com, delson@depa.ufrpe.br

11 ⁽²⁾ Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Ciências Biológicas, Avenida
12 Professor Nelson Chaves, s/n Cidade Universitária, CEP-50670-901, Recife, PE, Brasil. E-
13 mail: rejadel@yahoo.com.br

14
15
16 *Autor correspondente<delson@depa.ufrpe.com.br>

17
18 Ciências Agrárias: Área de Fitopatologia

19
20 Autor para correnpondência: Delson Laranjeira. Departamento de agronomia, Área de
21 Fitossanidade, Laboratório de Fungos de Solos, Universidade Federal Rural de Pernambuco.
22 Rua Dom Manoel de Medeiros, s/nº, Dois Irmãos, CEP-52171-900, Recife, PE, Brasil. (081)
23 3320-6060.

24 Resumo- Os objetivos deste trabalho foram selecionar isolados de leveduras com potencial de
25 redução da severidade da murcha-de-fusário em feijão-caupi e avaliar a eficiência de isolados
26 de *Trichoderma* no biocontrole de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em feijão-caupi. 45
27 isolados de leveduras obtidos de plantas de feijão-caupi foram avaliados em casa de vegetação
28 no biocontrole da murcha-de-fusário. As sementes de feijão-caupi foram tratadas com
29 suspensão de leveduras na concentração de 1×10^8 células/mL e semeadas em solo
30 previamente infestado com 50g de substrato colonizado pelo patógeno. Oito isolados de *T.*
31 *asperellum* foram avaliados no biocontrole de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em feijão-
32 caupi. O solo foi co-infestado com 8g de arroz colonizado por *Trichoderma* e 50g de substrato
33 colonizado por *Fusarium*. Após cinco dias, foi efetuado o plantio. A avaliação da doença foi
34 realizada 21 dias após o plantio. Dentre os isolados de leveduras avaliados, dez foram
35 responsáveis pela redução da doença. As leveduras *Pichia guiliermondii* (L45 e L44),
36 *Candida kefir* (L16), *Kluiveromyces lactis* (L33) e *Rhodotorula aurantiaca* (L30)
37 apresentaram potenciais de redução da murcha-de-fusário por apresentarem índices de 68%,
38 52%, 60% 48%, e 40%, respectivamente. Quanto aos isolados de *Trichoderma*, estes não
39 foram eficientes no biocontrole da murcha-de-fusário.

40 Termo para indexação: biocontrole, *Fusarium oxysporum*, *Vigna unguiculata* L.

41 **Yeasts and *Trichoderma* in reducing the severity of *Fusarium* wilt of cowpea**

42 Abstract- The objectives of this study were to select yeast isolates with potential to reduce the
43 severity of *Fusarium* wilt in cowpea and evaluate the efficiency of *Trichoderma* in biocontrol
44 of *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* in cowpea. 45 yeast isolates obtained from plants of
45 cowpea were evaluated in a greenhouse in biocontrol of *Fusarium* wilt. The seeds of cowpea
46 were treated with the yeast suspension at a concentration of 1×10^8 cells/ml and seeded in soil
47 infested previously with 50g substrate colonized by the pathogen. Eight strains of
48 *Trichoderma* were evaluated in biocontrol of *F. oxysporum* f. spp. *tracheiphilum* in cowpea.
49 The soil was co-infested 8g rice colonized by *Trichoderma* and 50g of substrate colonized by
50 *Fusarium*. After five days, the plant was made. Disease assessment was made 21 days after
51 planting. Among the isolated yeast evaluated ten were responsible for disease reduction. The
52 yeast *Pichia guiliermondii* (L45 and L44), *Candida kefyr* (L16) *Kluiveromyces lactis* (L33),
53 and *Rhodotorula aurantiaca* (L30) showed reduction potentials of *Fusarium* wilt for
54 presenting rates of 68%, 52%, 60% 48 %, and 40%, respectively. As for the *Trichoderma*
55 isolates, these were not effective in biocontrol of *Fusarium* wilt.

56 Term for indexing: biocontrol, *Fusarium oxysporum*, *Vigna unguiculata* L.

Introdução

57

58 O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L). Walp.] tem sua produção concentrada nas
59 regiões Norte e Nordeste do Brasil (Silva, 2011). Atualmente, a cultura encontra-se em
60 expansão na região Centro-Oeste, onde é cultivada em larga escala por médios e grandes
61 empresários (Freire Filho et al., 2011). Apesar da rusticidade e elevada resistência natural às
62 doenças, o feijão-caupi apresenta alguns patógenos capazes de reduzir a produtividade e, em
63 alguns casos específicos, inviabilizar a produção (Vieira Junior et al., 2010).

64

A murcha-de-fusário, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (E. F.
65 Smith) W. C. Snyder & H. N. Hansen é uma das mais importantes doenças que pode ocorrer
66 na cultura, dada as perdas econômicas provocadas pela elevada incidência da doença (Nechet
67 & Halfeld-Vieira, 2006). *Fusarium oxysporum* está entre os dez fungos fitopatogênicos de
68 maior importância científica e econômica em todo o mundo, por causar murcha vascular em
69 mais de 100 espécies de plantas (Dean et al., 2012).

70

O controle de *F. oxysporum* é especialmente dificultado porque o fungo sobrevive no
71 solo por vários anos através de estruturas de resistência, os clamidósporos (Cândida et al.,
72 2009). Além disso, não se encontra fungicidas registrados para o controle de doenças em
73 feijão-caupi (Vieira Junior et al., 2010). O controle da murcha-de-fusário requer a adoção de
74 múltiplas estratégias de manejo, como uso de sementes saudáveis, rotação de culturas por longos
75 períodos e a utilização de cultivares resistentes (Cândida et al., 2009). Embora, o uso de
76 cultivares resistentes seja apontado como um manejo para a doença, a obtenção parece ser
77 geneticamente complexa sendo, portanto, uma característica difícil de ser conferida pelo
78 melhoramento. Desta forma, o manejo adequado da cultura constitui a principal medida de
79 controle da murcha-de-fusário (Vieira Junior et al., 2010).

80

Pesquisas têm demonstrado que as leveduras podem desempenhar importante papel na
81 supressão de fitopatógenos habitantes do solo (Botha, 2011). Nestas circunstâncias, estes

82 organismos agem no controle das doenças, preferencialmente, como protetores da infecção e
83 não como curativos, pois são ativas consumidoras de nutrientes, efetivas como colonizadoras
84 de fermento e, em alguns casos, indutoras de resistência do hospedeiro (Valdebenito-
85 Sanhueza, 2000). El-Mehalawy (2004), relata o potencial de *Saccharomyces unisporus* A.
86 Jörg e *Candida steatolytica* Yarrow no controle de *F. oxysporum*.

87 Espécies de *Trichoderma* Pers são utilizadas com sucesso no controle de fitopatógenos
88 habitantes do solo (Harman, 2006), incluindo *T. asperellum* que tem sido utilizado no controle
89 biológico de fungos, nematóides e bactérias (Samuels et al., 2010). Associada a sua habilidade
90 antagônica a fitopatógenos (Yang & Xu, 2013), *Trichoderma* apresenta capacidade de
91 promover o crescimento e indução de resistência de plantas a patógenos (Shoresh et al.,
92 2005). Devido à dificuldade de manejo da murcha-de-fusário na cultura do feijão-caupi, o
93 presente trabalho teve como objetivos: selecionar isolados de leveduras com potencial de
94 redução da severidade da murcha-de-fusário em feijão-caupi e avaliar a eficiência de isolados
95 de *Trichoderma* no biocontrole de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em feijão-caupi.

96

97

Material e Métodos

98 Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de fungos de solo e, em casa de
99 vegetação da área de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE),
100 Recife-PE, no período de janeiro à julho de 2014.

101 Para a condução do teste de patogenicidade foram utilizados da Coleção de Fungos
102 Fitopatogênico prof^a. Maria Menezes, da UFRPE, 10 isolados de *F. oxysporum* f. sp.
103 *tracheiphilum* (CMM-0006, CMM-0013, CMM-0018 CMM-0028, CMM-0031, CMM-
104 0033, CMM-0045, CMM-0048 e CMM-0049, todos oriundos do município de São João-PE e,
105 o isolado CMM-0732, oriundo de Floresta-PE. Os fungos foram cultivados em placas de Petri
106 contendo o meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e mantidos em laboratório à

107 temperatura de 27 ± 3 °C, fotoperíodo de 12 horas (claro e escuro), durante sete dias. Após
108 esse período realizou-se o teste de patogenicidade, sendo preparada suspensão de conídios de
109 cada isolado, através da adição de 10 mL de água destilada esterilizada (ADE) sobre a
110 colônia, seguida de raspagem com alça de Drigalski. Em seguida, a suspensão foi filtrada em
111 gaze dupla esterilizada e a concentração ajustada para 1×10^6 conídios/mL com auxílio de um
112 hemacitômetro.

113 Para a realização do teste foram utilizadas plantas de feijão-caupi (cv. BR-17
114 Gurguéia) com sete dias de idade, cultivadas em vasos de plásticos com capacidade de 1,5 L,
115 contendo solo autoclavado (120 °C, 1 atm, 60 minutos, por dois dias consecutivos). O solo
116 utilizado apresentava em sua composição terra roxa, esterco bovino e pó de coco na proporção
117 (7: 2: 2) apresentando as principais características químicas: pH=6,1, $\text{Ca}^{+2}=2,75$ cmol/dm³,
118 $\text{Na}=0,47$ cmol/dm³, $\text{Mg}^{+2}=1,35$ cmol/dm³, $\text{K}^{+}=1,80$ cmol/dm³, $\text{H}=3,87$ cmol/dm³, $\text{P}=111$,
119 mg/dm³, $\text{S}=6,4$ cmol/dm³, $\text{CTC}=10,2$ cmol/dm³, $\text{C.O}=32,46$ g Kg⁻¹ e $\text{M.O}=55,96$ g kg⁻¹. O
120 método de inoculação empregado foi o Dipping (Menezes & Assis, 2004), as mudas foram
121 removidas, lavadas em água corrente e imersas na suspensão padronizada do inóculo, durante
122 15 minutos. As raízes da testemunha foram imersas em ADE. Em seguida, as mudas foram
123 replantadas e mantidas em casa de vegetação a temperatura de $34,4 \pm 5$ °C e umidade relativa
124 (UR) do ar de $70 \pm 5\%$. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado
125 (DIC), totalizando 11 tratamentos (10 isolados do patógeno e uma testemunha absoluta), com
126 cinco repetições, sendo cada repetição composta de quatro plantas.

127 A severidade da doença foi avaliada aos 21 dias após a inoculação através de uma
128 escala de notas de 0 a 4. Nota 0= ausência de sintomas; 1= ausência de sintomas externos de
129 murcha e presença de escurecimento vascular, confinada a raiz principal; 2= sintomas iniciais
130 da doença (amarelecimento e murcha) e escurecimento vascular atingindo o terço inferior do
131 caule; 3= sintomas bem definidos da doença (amarelecimento, murcha, lesões foliares e seca

132 das folhas) e escurecimento vascular atingindo o terço médio da planta; 4= sintomas bem
133 definidos da doença e escurecimento vascular atingindo o terço superior da planta ou plantas
134 mortas (O'donnell et al.,1998). A severidade da doença foi calculada com base no índice de
135 Mckiney (1923) modificado, onde as notas obtidas foram transformadas em índice de
136 severidade da doença (ISD) a partir da expressão: $ISD = [(N_0 \times 0) + (N_1 \times 1) + (N_2 \times 2) + (N_3$
137 $\times 3) + (N_4 \times 4) / (N_0 + N_1 + N_2 + N_3 + N_4)] \times 100$, onde N_0 = número de plantas com nota zero;
138 N_1 = número de plantas com nota 1; N_2 = número de plantas com nota 2; N_3 = número de
139 plantas com nota 3; N_4 = número de plantas com nota 4.

140 Para a realização do teste de seleção de leveduras, foram utilizados isolados de
141 leveduras obtidos de fragmentos de folhas, caules e raízes de plantas sadias de feijão-caupi.
142 Em tubos de ensaio contendo 10 mL de água de torneira esterilizada (ATE) e 50 mg/L de
143 cloranfenicol foram adicionados cinco fragmentos do material vegetal e postos em banho de
144 ultrassom durante 15 minutos. Logo após, agitados em “vórtex” para serem efetuadas as
145 diluições de 10^{-1} . Alíquotas de 0,1 mL foram plaqueadas em placas de Petri contendo meio
146 Sabouraud Dextrose e Ágar (SDA), suplementado com extrato de levedura (1,5 g/L) e
147 adicionado de cloranfenicol (50 mg/L). Com o auxílio de uma alça de Drigalski, a suspensão
148 foi espalhada na superfície do meio de cultura. Após 72 horas à temperatura de 27 ± 2 °C,
149 colônias isoladas foram repicadas para placas com meio SDA e mantidas em geladeira à 4° C
150 durante todo o período da pesquisa.

151 O inóculo de *Fusarium* (CMM-0732) selecionado em teste de patogenicidade, foi
152 produzido em substrato constituído da mistura de areia lavada seca ao ar e peneirada, farinha
153 de milho e água destilada (Nene & Haware, 1980), na proporção de 90 g de areia, 10 g de
154 farinha de milho e 40 mL de água. O substrato foi acondicionado em saco plásticos de
155 polipropileno e esterilizado em autoclave (120° C, 60 minutos, por duas vezes consecutivas).
156 A inoculação do substrato foi realizada através da adição de cinco discos de BDA de cinco

157 milímetros contendo estruturas do patógeno, obtidos de colônias com sete dias de idade. Os
158 sacos foram lacrados em máquina seladora e, mantidos por 21 dias à temperatura de $27 \pm 3^\circ\text{C}$
159 em laboratório, sendo revolvidos a cada dois dias para uniformidade da colonização.

160 45 isolados de leveduras foram submetidos à seleção em casa de vegetação no controle
161 da murcha-de-fusário em feijão-caupi. Para esta finalidade, foram utilizados vasos de plástico
162 com capacidade de 1,5 L, contendo solo autoclavado e de mesma característica química
163 utilizado anteriormente. Antes da infestação do solo, a densidade de propágulos viáveis de *F.*
164 *oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (CMM-0732) foi determinada segundo Jonson & Curl,
165 (1972). A infestação ocorreu através da adição de 50 g de substrato colonizado pelo patógeno
166 ($4,5 \times 10^7$ UFC/g de substrato). Antes do plantio, as sementes de feijão-caupi foram tratadas
167 por 10 minutos, com suspensão de leveduras (1×10^8 células/ mL) obtida a partir da adição de
168 10 mL de ADE, raspagem da colônia com 72 horas de idade e ajustada em hemacitômetro.
169 Após o tratamento, as sementes foram acondicionadas em placas de Petri durante 12 horas à
170 temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$. O plantio ocorreu após cinco dias da infestação do solo. Os vasos
171 permaneceram em casa de vegetação durante 21 dias à temperatura de $32,5 \pm 4^\circ\text{C}$, e umidade
172 de $77,3 \pm 4\%$. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com
173 quatro repetições, sendo cada repetição constituída de quatro plantas. O tratamento
174 testemunha foi representado por vasos contendo solo infestado apenas com o patógeno.

175 O índice de severidade da doença (ISD) foi avaliado aos 21 dias após a semeadura
176 utilizando a mesma escala de notas descrita anteriormente. Com os valores do ISD, calculou-
177 se a redução da severidade da doença (RSD) por meio da expressão: $\text{RSD} = [(\text{ISD da}$
178 $\text{testemunha} - \text{ISD do tratamento}) / \text{ISD testemunha}] \times 100$. Os isolados de leveduras
179 selecionados no teste de controle biológico foram identificados em nível de espécies através
180 da taxonomia clássica, conforme Barnnet et al. (2000).

181 Oito isolados de *Trichoderma asperellum* (LCB 71, LCB 72, LCB 79, LCB 80, LCB
182 47TE, LCB 48TE, LCB 292 e T25) foram avaliados em casa de vegetação no controle
183 biológico de três isolados de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* (CMM-0006, CMM-0013 e
184 CMM-0732,) selecionados em teste de patogenicidade por causarem índices de severidade da
185 doença superiores à 58%.

186 Primeiro teste experimental: a produção do inóculo de *Trichoderma* foi realizada em
187 placas de Petri, contendo oito gramas de grãos de arroz parboilizado, 4 mL de água destilada
188 Após a esterilização em autoclave à 120°C, 1 atm por 30 minutos, o substrato foi inoculado a
189 partir da adição de três discos de cinco milímetros de diâmetro, contendo as estruturas do
190 antagonista obtidas de uma cultura com sete dias de idade. O inóculo foi mantido em
191 laboratório à temperatura de 27 ± 3 °C e fotoperíodo de 12 horas, por sete dias. O inóculo do
192 patógeno foi produzido em sacos de polipropileno contendo o mesmo substrato descrito
193 anteriormente no teste de seleção de leveduras. Antes da infestação do solo, a densidade dos
194 propágulos viáveis (UFC/g de substrato) de *Fusarium* foi determinada através do método de
195 diluição em série (Jonson & Curl,1972), cujos valores obtidos para os isolados CMM0732,
196 CMM006 e CMM0013 foram de $5,4 \times 10^7$; $5,5 \times 10^7$; $3,2 \times 10^7$, respectivamente. Vasos de
197 plástico com capacidade de 1,5 L, contendo solo autoclavado e de mesma característica
198 química utilizado nos experimentos anteriores, foram infestados com adição de 50 g de
199 substrato colonizado pelos isolados de *Fusarium*, juntamente com oito gramas de arroz
200 colonizado por *Trichoderma*. Cinco dias após a infestação do solo, foi realizado o plantio das
201 sementes de feijão-caupi, previamente desinfestadas durante três minutos em solução de
202 NaClO a 1,5 %. Os vasos permaneceram em casa de vegetação à temperatura de $32,2 \pm 4$ °C e
203 umidade de 76 ± 4 %, durante 21 dias até a avaliação da doença.

204 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 8 x 3,
205 representado por oito isolados de *T. asperellum* e três isolados de *F. oxysporum* f. sp.

206 *tracheiphilum*, com quatro repetições, sendo cada repetição composta de quatro plantas.
207 Foram utilizadas três testemunhas, inoculadas apenas com o patógeno, sendo uma testemunha
208 para cada isolado de patógeno. Os sintomas da doença foram avaliados aos 21 dias após o
209 plantio, utilizando a mesma escala de notas descrita anteriormente.

210 O segundo teste experimental foi realizado em condições similares do primeiro teste,
211 com oito isolados de *Trichoderma* e três isolados do patógeno, seguindo a mesma
212 metodologia descrita anteriormente. Os vasos permaneceram em casa de vegetação durante 21
213 dias à temperatura de $31,5 \pm 1,5$ °C e umidade de 70 ± 5 % até a avaliação da doença.

214 Os dados obtidos foram analisados quanto ao atendimento dos pressupostos da análise
215 de variância (ANOVA) e os tratamentos comparados pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$)
216 utilizando o programa computacional SISVAR (versão 5.3 Build 77; Universidade Federal de
217 Lavras (UFLA), Brasil).

218 **Resultados e Discussão**

219 Dentre os dez isolados de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* avaliados em teste de
220 patogenicidade, os isolados CMM-0006, CMM-0013, CMM-0033 e CMM-0732 foram
221 responsáveis pelos maiores índices de severidade da doença, sendo o CMM-0732 o que
222 diferiu significativamente dos demais isolados por causar um índice de 100% de severidade
223 em feijão-caupi (Tabela 1).

224 No presente estudo, os níveis de severidade da doença variaram entre 6,25 a 100%
225 entre os isolados de *Fusarium*. Resultados semelhantes foram encontrados por Veloso (2013)
226 que relata em seu trabalho que, isolados de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* causaram
227 índices de severidade que variaram entre 12 a 100%. Da mesma forma, Assunção et al.
228 (2003), observaram uma variação no índice da doença nas cultivares de feijão-caupi BR-17

229 Gurguéia e IPA-2006. Em estudos realizados por Rodrigues et al. (2006), *F. oxysporum* f. sp.
230 *tracheiphilum* causou um índice de doença de 68,85% em feijão-caupi.

231 Dentre as leveduras avaliadas em casa de vegetação no controle de *Fusarium*, os
232 isolados L45, L16, L21, L6, L29, L44, L17, L33, L19 e L30 foram considerados os mais
233 promissores por apresentarem índices de redução da severidade da doença que variaram entre
234 40 a 60% (Tabela 2). Os isolados de leveduras selecionados no teste de controle biológico
235 foram identificados, como sendo pertencentes às espécies *Pichia guiliermondii* (L45 e L44),
236 *Candida kefyr* (L16), *Kluiveromyces lactis* (L33) e *Rhodotorula aurantiaca* (L30).

237 Estudos com leveduras realizados por El-Mehalawy et al. (2004) demonstraram o
238 potencial das leveduras *Candida glabrata* Anderson, *C. maltosa* Komag., *C. slooffiae* Uden &
239 Carmo Sousa, *Rhodotorula rubra* Schimon, e *Trichosporon cutaneum* Beurm na redução da
240 murcha tardia do milho (*Zea mays*) causada por *Cephalosporium maydis* Samra. Conforme os
241 autores, todos os isolados de leveduras reduziram em mais de 80% a incidência da doença, em
242 condições de casa de vegetação. Da mesma forma, El-Tarabily (2004), comprovou a eficácia
243 de leveduras como *C. valida* Leberle, *T. asahii* Akagi, *R. glutinis* Frezen, no controle de
244 *Rizoctonia solani* Kühn fungo habitante do solo. Em estudos conduzidos por Abo-Elyours &
245 Mohamed (2009), a pré-inoculação de plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com as
246 espécies de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* Meyen, *C. sake* (Saito & M. Ota) e *Picchia*
247 *membranifaciens* (E.C. Hansen) reduziram em 29,3; 12,5 e 11,7%, respectivamente, a
248 severidade da murcha-de-fusário em condições de campo.

249 As leveduras são promissoras no controle biológico e têm sido utilizadas com
250 eficiência, pois são integrantes da microbiota epifítica, endofítica e do solo onde as
251 plantas se desenvolvem, competem por nutrientes, colonizam ferimentos e podem induzir
252 a resistência do hospedeiro (Valdebenito-Sanhueza, 2000).

253 Os isolados de *T. asperellum* avaliados no controle biológico de *Fusarium* não foram
254 eficientes na redução da murcha-de-fusário (Tabela 3). No primeiro ensaio experimental, foi
255 observado que houve uma interação significativa entre isolados de *Fusarium* e isolados de
256 *Trichoderma* causando efeito deletério às plântulas de feijão-caupi. O isolado CMM-006 de
257 *Fusarium* causou maior índice de severidade da doença, quando da interação com os isolados
258 de *Trichoderma*. Além do incremento na severidade da doença, também foram observados
259 efeitos deletérios (apodrecimento) nas sementes. No segundo ensaio experimental, resultados
260 semelhantes foram observados. Não houve controle da murcha-de-fusário pelos isolados de
261 *Trichoderma*. As combinações dos isolados de *Trichoderma* com os isolados de *Fusarium*
262 também aumentaram o índice de severidade da doença (Tabela 4).

263 Resultados semelhantes foram constatados por Milanesi et al. (2013), que avaliaram
264 espécies de *Trichoderma* no biocontrole de *Fusarium* spp. Conforme os autores, algumas
265 combinações de *Trichoderma* spp. potencializaram a patogenicidade de isolados de *Fusarium*
266 F1s e F3s que causaram 100 e 75% de tombamento de plântulas de soja (*Glycine Max*),
267 respectivamente. Nos tratamentos em que *F. oxysporum* foi combinado com *T. asperellum*, os
268 percentuais de doença variaram de 25 à 100%.

269 No presente estudo, os efeitos deletérios observados nas plântulas foram: necrose nos
270 cotilédones, morte após a emissão da radícula, paralização e retardo no crescimento da
271 radícula e estágio de plântula permanente. Eventos como estes foram observados com maior
272 frequência na interação entre os isolados de *Trichoderma* e isolado do patógeno (CMM-006),
273 em dois experimentos. O mesmo não foi observado com o tratamento testemunha. Os
274 resultados obtidos neste estudo podem está relacionados com a densidade de inóculo de
275 *Trichoderma* e fatores ambientais. Segundo Fisher et al. (2010), a influência dos fatores
276 ambientais e de solo, pode afetar o estabelecimento de *Trichoderma* no solo. Embora os
277 efeitos deletérios, causado pela interação de *Trichoderma* com o agente patogênico sejam

278 pouco relatados, Carvalho et al. (2011) observaram que plantas de feijoeiro (*Phaseolus*
279 *vulgares* L.) tratadas com concentrações de 1×10^8 conídios/mL de *T. harzianum*,
280 apresentaram redução no crescimento das raízes e necrose na raiz pivotante. Carvalho et al.
281 (2006), relataram toxicidade de metabólitos produzidos por *T. viride* à coleóptilo de trigo.

282 *Trichoderma asperellum* é considerado um importante biocontrolador devido a sua
283 habilidade antagônica a fungos patogênicos de plantas (Yang & Xu, 2013). No entanto, o
284 sucesso do controle de fitopatógenos por agentes de biocontrole dependerá das propriedades e
285 mecanismos de ação do organismo utilizado (Machado et al., 2012). Além disso, o sucesso
286 também dependente das complexas interações que esses microrganismos benéficos
287 estabelecem com o patógeno, planta e o ecossistema do solo (Vinale et al., 2008).

288

289 **Conclusões**

- 290 1. As Leveduras são eficazes na redução da severidade da murcha-de-fusário em feijão-
291 caupi causada por *F.oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*.
- 292 2. Os isolados de *Trichoderma* apresentaram efeitos deletérios às plântulas de feijão-
293 caupi, quando da combinação com os isolados de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*.

294

295 **Agradecimentos**

296 Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) da
297 pela concessão da bolsa de estudo.

Referências

298

299

300 ABO-ELYOUSR, K.A.M.; MOHAMED, H.M. Biological control of Fusarium wilt in tomato
301 by plant growth-promoting yeast and rhizobacteria. *The Plant Pathology Journal*, v.25, p.199-
302 204, 2009.

303

304 ASSUNÇÃO, I.P., MICHEREFF, S.J., MIZUBUTI, E.S.G.; BROMMONSCHENKEL, S.H.
305 Influência da intensidade da murcha-de-fusário no rendimento do caupi. **Fitopatologia**
306 **Brasileira**, v.28, p.615-619. 2003.

307

308 BARNETT, L.A.; PAINE, R.W.; YARROW, D. *Yeasts: characteristics and identification*.
309 Cambridge University Press, Cambridge, UK. 2000.

310

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

313

314 CÂNDIDA, D.V.; COSTA, C.G.J.; RAVA, C.A.; CARNEIRO, M.S. Controle genético da
315 murcha do fusário (*Fusarium oxysporum*) em feijoeiro comum. **Tropical Plant Pathology**,
316 v.34, p.379-384, 2009.

317

318 CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M.; JUNIOR, M.L.; SILVA, M.C. Controle de
319 *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes, e promoção do crescimento inicial do
320 feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v.36, p.28-32,
321 2011.

- 322 CARVALHO, D.D.C.; OLIVEIRA, D.F.; CAMPOS, V.P.; PASQUAL, M.; GUIMARAES,
323 R.M.; CORRÊA, R.S.B. Avaliação da capacidade de produzir fitoalexinas *in vitro* por parte
324 de fungos com propriedades antagônicas a nematóides. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30,
325 p.1230-1235, 2006.
- 326
- 327 DEAN, R.; JA, V.K.; ZA, P. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology.
328 **Molecular Plant Pathology**, v.13, p.414-430, 2012.
- 329
- 330 EL-MEHALAWY, A.A. The rhizosphere yeast fungi as biocontrol agents for wilt disease of
331 kidney bean caused for *Fusarium oxysporum*. **International Journal of Agriculture and**
332 **Biology**, v.6, p.310-316, 2004.
- 333
- 334 EL-MEHALAWY, A.A.; HASSANEIN, N.M.; KHATER, H.M.; KARAM EL-DIN, E. A.;
335 YOUSSEF, Y.A. Influence of maize root colonization by the rhizosphere actinomycetes and
336 yeast fungi on plant growth and on the biological control of late wilt disease. **International**
337 **Journal of Agriculture and Biology**, v.6, p. 599-605, 2004.
- 338
- 339 EL-TARABILY, K. A. Supression of *Rizoctonia solani* disease of sugar beet by antagonistic
340 and plant growth-promoting yeast. **Journal Applied Microbiology**, v. 96, p. 69-75, 2004.
- 341
- 342 FISCHER, I.H.; ALMEIDA, A.M. de; FILETI, M.S.; BERTANI, R.M.A.; ARRUDA, M.C.
343 de; BUENO, C. J. Avaliação de passifloraceas, fungicidas e *Trichoderma* para o manejo da
344 podridão-do-colo do maracujazeiro, causada por *Nectria haematococca*. **Revista Brasileira**
345 **de Fruticultura**, v.32, p.709-717, 2010.

- 346 FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; ROCHA, M.M.; SILVA, K.J.D.; NOGUEIRA,
347 M.S.R. **Feijão-caupi no Brasil**: Produção, melhoramento genético, avanços e desafios.
348 Teresina: Embrapa meio norte, 2011. 84 p.
349
- 350 HARMAN, G.E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**,
351 v.96, p.190-194, 2006.
352
- 353 JOHNSON, L.F.; CURL, E.A. **Methods for research on ecology of soil-born plant**
354 **pathogens**. Minneapolis: Burgess, 1972, 235p.
355
- 356 MACHADO, D.F.M.; PARZIANELLO, F.R.; SILVA, A.C.F.; ANTONIOLLI, Z.I.
357 *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, p.274-
358 299, 2012.
359
- 360 MCKINNEY, H.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings
361 by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.26, p.195-218, 1923.
362
- 363 MENEZES, M.; ASSIS, S.M.P. **Guia prático de fungos fitopatogênicos**. 2. ed. Recife:
364 UFRPE, Imprensa Universitária, 2004. p.183.
365
- 366 MILANESE, M.P.; BLUME, E.; ANTONIOLI, Z.I.; MUNIZ, M.F.B.; SANTOS, M.F.dos.;
367 FINGER, G.; DURIGON, M.R. Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e
368 promoção de crescimento em plântulas de soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v.36, p.347-
369 356, 2013.

- 370 NECHET, K.L.; HALFELD-VIEIRA, B.A. **Doenças do feijão-caupi em Roraima**. Boa
371 Vista: Embrapa Roraima, 2006. 16 p. (Circular Técnica 2).
372
- 373 NENE, Y.L.; HAWARE, M.P. Screening chickpea for resistance to wilt. **Plant Disease**, v.64,
374 p.379-380, 1980.
375
- 376 O'DONNELL, K.; KISTLER, H.C.; CIGELNIK, E.; PLOETZ, R. C. Multiple evolutionary
377 origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear
378 and mitochondrial gene genealogies. **Proceedings of the National Academy of Sciences**,
379 v.95, p.2044-2049, 1998.
380
- 381 RODRIGUES, A.A.C.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R.S.B. Indução de resistência a
382 *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em caupi: eficiência de indutores abióticos e
383 atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p.492-499, 2006.
384
- 385 SAMUELS, G.J.; ISMAIEL, A.; BON, M.C.; RESPINIS, S.; PETRINE, O. *Trichoderma*
386 *asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. **Mycology**, v.102, p.944-966, 2010.
387
- 388 SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling
389 pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203.
390 **Phytopatology**, v.95, p.76-84, 2005.
391
- 392 VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Leveduras para o biocontrole de fitopatógenos In:
393 MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa meio ambiente,
394 2000, p. 41-55.

- 395 VELOSO, J.S. **Diversidade genética, morfológica e patogênica de isolados de *Fusarium***
396 ***oxysporum* associados à murcha em feijão-caupi**. 2013. 43p. Dissertação (Mestrado em
397 Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- 398
- 399 VIERA JUNIOR, J.R.; FERNANDES, C.F.; ROSA NETO, C.; MARCOLAN, A.L.;
400 ANTUNES JUNIOR, A.H.; REIS, N.D. Ocorrência da fusariose (*Fusarium oxysporum* f. sp.
401 *tracheiphilum*) em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) (Walp.) em Rondônia, Porto velho,
402 2010. (Comunicado técnico 355).
- 403
- 404 VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHRISALBERTI, E.L.; ROBERTO, M.; WOO, S.
405 L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**,
406 v.40, p.1-10, 2008.
- 407
- 408 YANG, P.; XU, Q. The biocontrol mechanism of *Trichoderma asperellum* resistance plant
409 pathogenic fungi. **Advanced materials research**,v.726-731, p.452-548, 2013.

410 **Tabela 1.** Avaliação de dez isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* na
 411 severidade da murcha-de-fusário em feijão-caupi calculado pelo índice de severidade da
 412 doença (ISD).

Isolados de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>tracheiphilum</i>	ISD% ⁽¹⁾
CMM-0732	100,00 a ⁽²⁾
CMM-0006	81,25 b
CMM-0013	58,75 c
CMM-0033	52,50 c
CMM-0028	10,00 d
CMM-0018	6,25 d
CMM-0048	6,25 d
CMM-0049	0,00 d
CMM-0031	0,00 d
CMM-0045	0,00 d
CV%	32,24

413 ⁽¹⁾ Índice de severidade da doença.

414 ⁽²⁾ Médias originadas de cinco repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem
 415 significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

416 **Tabela 2.** Avaliação de 45 isolados de leveduras no biocontrole de *Fusarium oxysporum* f.
 417 *sp. tracheiphilum* em feijão-caupi.

418

Isolados de Leveduras	ISD (%) ⁽¹⁾	RSD (%) ⁽²⁾
L45	12,50 a ⁽⁴⁾	68,00 a ⁽⁴⁾
L16	15,62 a	60,00 a
L21	15,62 a	60,00 a
L6	15,62 a	60,00 a
L29	18,75 a	52,00 a
L44	18,75 a	52,00 a
L17	20,31 a	48,00 a
L33	20,31 a	48,00 a
L19	21,87 a	44,00 a
L30	23,43 a	40,00 a
L23	25,00 a	36,00 b
L27	25,00 a	36,00 b
L10	26,56 a	32,00 b
L31	28,12 a	28,49 b
L4	28,12 a	28,00 b
L15	28,12 a	28,00 b
L37	28,12 a	28,00 b
L11	28,12 a	28,00 b
L20	28,12 a	28,00 b
L40	29,68 a	24,00 b
L13	31,25 a	20,00 b
L12	34,37 b	12,00 b
L22	40,62 b	18,00 b
L39	42,18 b	14,00 b
L36	43,75 b	22,00 b
L35	50,00 b	18,00 b
L8	50,00 b	- ⁽³⁾
L1	51,56 b	-
L9	53,12 c	-
L26	57,81 c	-
L24	59,37 c	-
L14	62,50 c	-
L42	64,06 c	-
L43	64,06 c	-
L7	70,31 c	-
L3	73,43 c	-
L32	76,56 d	-
L41	78,12 d	-
L38	79,68 d	-
L25	81,25 d	-
L18	87,50 d	-
L2	87,50 d	-
L28	90,62 d	-
L34	100,00 d	-
L5	100,00 d	-
Testemunha	39,06 b	-
C.V%	7,39	43,80

419 ⁽¹⁾ Índice de severidade da doença.

420 ⁽²⁾ Redução da severidade da doença. ⁽³⁾ Não apresentaram eficiência de controle da doença.

421 ⁽⁴⁾ Médias originadas de quatro repetições. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem
 422 significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

423 **Tabela 3.** Primeiro ensaio experimental: A avaliação de oito isolados de *Trichoderma*
 424 no controle biológico da murcha-de-fusário em feijão-caupi.

Tratamento ⁽²⁾	ISD % ⁽¹⁾		
	CMM-0013 ⁽³⁾	CMM-006 ⁽³⁾	CMM-0732 ⁽³⁾
LCB71	10,93 aB ⁽⁴⁾	42,18 aA ⁽⁴⁾	20,31 bB ⁽⁴⁾
LCB72	15,62 aB	64,06 aA	50,00 aA
LCB47TE	15,62 aB	42,18 aA	21,87 bB
T25	18,75 aB	48,43 aA	18,75 bB
LCB79	18,75 aB	51,56 aA	34,37 bB
LCB292	18,75 aB	23,43 bB	46,87 aA
LCB48TE	28,12 aA	39,06 aA	20,31 bA
LCB80	34,37 aA	51,56 aA	31,25 bA
Testemunha	9,38 aA	10,90 bA	25,00 bA
C.V%			47,84

425 ⁽¹⁾ Índice de severidade da doença.

426 ⁽²⁾ Isolados de *Trichoderma asperellum*; ⁽³⁾ Isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*.

427 ⁽⁴⁾ Médias originadas de quatro repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra

428 maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

429 **Tabela 4.** Segundo ensaio experimental: A avaliação de oito isolados de *Trichoderma* no
 430 controle biológico da murcha-de-fusário em feijão-caupi.

Tratamento ⁽²⁾	ISD % ⁽¹⁾		
	CMM-0013 ⁽³⁾	CMM-0006 ⁽³⁾	CMM-0732 ⁽³⁾
T25	10,93 cC ⁽⁴⁾	82,81 aA ⁽⁴⁾	39,06 bB ⁽⁴⁾
LCB47TE	10,93 cC	76,56 aA	42,18 bB
LCB292	12,50 bC	26,56 bC	65,62 aA
LCB71	15,62 aC	21,87 aC	34,37 bA
LCB48TE	21,87 bC	81,25 aA	37,50 bB
LCB79	21,87 bC	78,12 aA	64,06 aA
LCB 80	42,18 bB	42,18 bB	62,50 aA
LCB72	59,37 aB	84,37 aA	78,12 aA
Testemunha	10,93 cA	17,18 cA	48,43 bA
C.V%			27,07

431 ⁽¹⁾ Índice de severidade da doença.

432 ⁽²⁾ Isolados de *Trichoderma asperellum*; ⁽³⁾ Isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*.

433 ⁽⁴⁾ Médias originadas de quatro repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra
 434 maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

CAPITULO III



Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

- O uso de leveduras no tratamento de sementes de feijão-caupi demonstra ser uma ferramenta promissora no controle biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*.
- Dez isolados de leveduras (L45, L16, L21, L6, L29, L44, L17, L33, L19 e L30) apresentaram potencial antagônico a *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, sendo considerados os mais eficientes na redução da severidade da murcha-de-fusário em feijão-caupi.
- As leveduras selecionadas e identificadas como *Pichia guiliermondii* (L45 e L44), *Candida kefyr* (L16), *Kluiveromyces lactis* (L33) e *Rhodotorula aurantiaca* (30) apresentaram potencial antagônico a *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, sendo eficientes no controle biológico da murcha-de-fusário em feijão-caupi.
- 2. Os isolados de *Trichoderma asperellum* não apresentaram potencial de controle da murcha-de-fusário em feijão-caupi.