

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI**

**CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**FABIANA VIRGINIA DE SOUSA**

**EFEITO DA INOCULAÇÃO ENDOFÍTICA DE FUNGOS NO  
DESENVOLVIMENTO DO FEIJOEIRO E NO CONTROLE DA  
FERRUGEM**

**SÃO JOÃO DEL REI - MG**

**DEZEMBRO 2022**

**FABIANA VIRGINIA DE SOUSA**

**EFEITO DA INOCULAÇÃO ENDOFÍTICA DE FUNGOS NO  
DESENVOLVIMENTO DO FEIJOEIRO E NO CONTROLE DA  
FERRUGEM**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado  
ao Curso de Bacharelado em Biotecnologia da  
Universidade Federal de São João del-Rei, como  
parte das exigências para a obtenção do título de  
Bacharel em Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Wellington Garcia de Campos

Aprovado em 15 de dezembro de 2022

Banca examinadora:

Profa. Dra. Ana Paula Madureira - UFSJ

Prof. Dr. Ivan Carlos dos Santos - UFSJ

Prof. Dr. Wellington Garcia de Campos - UFSJ

**SÃO JOÃO DEL REI - MG**

**DEZEMBRO 2022**

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca  
(DIBIB) e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da  
UFSJ, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S725e Sousa, Fabiana Virginia .  
EFEITO DA INOCULAÇÃO ENDOFÍTICA DE FUNGOS NO  
DESENVOLVIMENTO DO FEIJOEIRO E NO CONTROLE DA  
FERRUGEM / Fabiana Virginia Sousa ; orientador  
Wellington Garcia Campos. -- São João del-Rei, 2022.  
30 p.

Trabalho de Conclusão (Graduação - Biotecnologia)  
- Universidade Federal de São João del-Rei, 2022.

1. Biotecnologia,. 2. Controle Biológico. 3.  
Trichoderma. 4. Saccharomyces cerevisiae. 5.  
Phaseolus vulgaris. I. Campos, Wellington Garcia,  
orient. II. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus pela vida, por abençoar e guiar o meu caminho.

À minha família por todo o amor, apoio e suporte que me dão todos os dias, é graças a vocês que estou aqui hoje.

A todos os docentes pelos ensinamentos e em especial ao meu orientador Wellington Garcia de Campos, pela sua disponibilidade, auxílio e incentivo que foram fundamentais para realizar e prosseguir este estudo.

Gratidão aos amigos de longa data, pela amizade e o carinho de sempre e por desempenharem um papel significativo no meu crescimento. E também aos amigos que a Universidade me presenteou, por partilharem de seus conhecimentos, pelo incentivo a nunca desistir, além do amor, acolhimento e alegria ofertados durante o curso, o que tornou o caminho mais leve e divertido. Levo um pouco de cada um de vocês comigo.

À Universidade Federal de São João del Rei, pela oportunidade de realização e concretização da graduação em Biotecnologia.

Por fim, muito obrigada a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho.

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	10
2.1 <i>Phaseolus vulgaris</i> (feijão comum) .....	10
2.2 Ferrugem do feijoeiro .....	12
2.3 Fungos entomopatogênicos .....	13
2.4 Endofítia .....	14
2.5 <i>Trichoderma</i> .....	15
2.6 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	16
3. OBJETIVOS.....	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1 Local de trabalho.....	18
3.2 Obtenção do Patógeno .....	18
3.3 Obtenção dos fungos benéficos .....	19
3.4 Inoculação dos fungos.....	19
3.4.1 Método de inoculação fungos benéficos.....	19
3.4.2 Método de inoculação fungo patogênico.....	20
3.5 Delineamento Experimental .....	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	21
6. CONCLUSÕES .....	24
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

## RESUMO

SOUSA, Fabiana Virginia. **Efeito da inoculação endofítica de fungos no desenvolvimento do feijoeiro e no controle da ferrugem.** Monografia de Graduação. UFSJ, 2022. Orientador: Wellington Garcia de Campos.

O feijão-comum *Phaseolus vulgaris* possui grande importância nutricional e socioeconômica e posição de destaque na agricultura brasileira. Insetos pragas e doenças microbianas estão entre os principais limitantes da sua produção e a ferrugem, causada pelo fungo *Uromyces appendiculatus* leva a grandes perdas. O controle biológico tem se mostrado eficaz e ecologicamente sustentável contra esses organismos. Os fungos entomopatogênicos e outros tipos de fungos benéficos são capazes de colonizar plantas de maneira endofítica, reduzindo problemas com pragas e doenças e melhorando o desenvolvimento da planta. Este estudo avaliou se inoculações de *Trichoderma* sp. e de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* em sementes de feijão são capazes de melhorar o desenvolvimento da planta e ainda controlar a ferrugem do feijoeiro. As sementes foram desinfetadas e imersas em soluções dos fungos, isolados e associados, sendo depois cultivadas em vasos em casa-de-vegetação. Após a germinação, metade dos tratamentos foram inoculados com extrato foliar de plantas afetadas com ferrugem. Em seguida, as plantas desenvolveram-se por 90 dias. Apesar da inoculação do patógeno, não se identificou visualmente infestação pela ferrugem em nenhum dos tratamentos. De fato, esse fator não afetou significativamente o desenvolvimento das plantas. Por outro lado, a inoculação das sementes com fungos benéficos afetou o desenvolvimento das plantas. No entanto, o efeito foi exclusivo da levedura *S. cerevisiae*, diminuiu o desenvolvimento das plantas, tanto aplicada isoladamente quanto em associação com *Trichoderma*. O efeito ocorrido foi, portanto, contrário ao efeito benéfico esperado, contrariando a literatura e indicando a necessidade da continuidade de pesquisas no tema.

**Palavras chave:** Biotecnologia, controle biológico, controle microbiano, *Trichoderma*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Phaseolus vulgaris*

## ABSTRACT

SOUSA, Fabiana Virginia. **Effect of endophytic fungi inoculation on common bean development and leaf rust control.** Undergraduation Monograph. UFSJ, 2022. Advisor: Wellington Garcia de Campos.

The common bean *Phaseolus vulgaris* has great nutritional and socioeconomic importance and a prominent position in Brazilian agriculture. Insect pests and microbial diseases are among the main limitations of its production. The leaf rust, caused by the fungus *Uromyces appendiculatus*, leads to great losses. Biological control has proven to be effective and ecologically sustainable against these unwanted organisms. Entomopathogenic fungi and other types of beneficial fungi are able to endophytically colonize plants, reducing problems with pests and diseases and improving plant development. This study evaluated whether inoculations of *Trichoderma* sp. and *Saccharomyces cerevisiae* in bean seeds are able to improve plant development and control bean rust. The seeds were disinfected and immersed in fungal solutions, isolated and associated, and then grown in pots in a greenhouse. After germination, half of the treatments were inoculated with leaf extract from plants affected by rust. Then the plants developed for 90 days. Despite inoculation with the pathogen, rust infestation was not visually identified in any treatment. In fact, this factor did not significantly affect plant development. On the other hand, seed inoculation with beneficial fungi affected plant development. However, the effect was unique to the yeast *S. cerevisiae*. However, it decreased plant development, both applied alone and in association with *Trichoderma*. The effect that occurred was, therefore, contrary to the expected beneficial effect, not supporting the literature and indicating the need for further research on this subject.

Keywords: Biotechnology, biological control, microbial control, *Trichoderma*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Phaseolus vulgaris*.

## 1. INTRODUÇÃO

A cultura do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), planta anual herbácea, pertencente à família Fabaceae, possui grande importância econômica e social para o Brasil, uma vez que é uma leguminosa consumida em grandes quantidades, por todas as classes sociais, sendo, para muitos, a principal fonte de proteínas, minerais, vitaminas e fibras, principalmente onde a população tem acesso limitado à proteína animal (Serrano & Goñi, 2004). Apesar do esforço para se obter melhor produtividade dessa planta, tem aumentado a incidência de doenças nas lavouras, sobretudo as de origem fúngica. Dentre essas doenças, destaca-se a ferrugem, causada pelo fungo *Uromyces appendiculatus* (Pers) Unger, que sob irrigação, especialmente na safra de inverno, tem ocasionado prejuízos aos produtores (Vieira et al., 2005).

A ferrugem provoca amarelecimentos puntiformes, que se partem quando as frutificações do fungo amadurecem. Esta doença afeta folhas, vagens, ramos e todas as demais porções verdes da planta. O fungo é de ocorrência mundial, porém é mais comum nas áreas tropicais e subtropicais e podem levar a prejuízos de 45% ou total na produção, de acordo com a precocidade e severidade da infecção (Jesus Junior et al., 2001). Na tentativa de eliminar esses patógenos, geralmente busca-se o auxílio de agentes químicos. Desde 2008, o Brasil se tornou o maior consumidor global de agrotóxicos sintéticos. Muitos produtos, que já foram proibidos em outros países, ainda são usados no País, com riscos à saúde e ao meio ambiente (Pignati et al., 2017).

Há uma necessidade emergente de mudar as práticas agrícolas baseadas no intenso uso de pesticidas químicos, buscando formas mais sustentáveis, que visam proteção ambiental, segurança humana e bem-estar animal. O uso de agentes de controle biológico, como os fungos entomopatogênicos para a supressão de insetos-praga, pode ser mais seguro que os inseticidas e fungicidas químicos. Os fungos podem interagir de vários modos com outras espécies como por competição, simbiose ou parasitismo, e os entomopatogênicos atacam insetos usando-os como hospedeiros para desenvolver parte de seu ciclo de vida (Delgado & Murcia, 2011).

Além de seu uso como inseticidas biológicos, há evidências crescentes de que muitas espécies de fungos entomopatogênicos desempenham uma



atividade endofítica, podendo colonizar os tecidos de certas plantas (Vega et al., 2008). Fungos endofíticos podem viver dentro das plantas e, normalmente não causam danos à hospedeira (Gurulingappa et al., 2010). Há várias espécies desses fungos que ocorrem de forma natural em diferentes espécies de plantas, entretanto, existem tentativas bem-sucedidas de introduzir artificialmente os fungos entomopatogênicos em tecidos vegetais, usando diversas técnicas de inoculação (Vega et al., 2008; Vega, 2018). Além do controle de insetos que atacam as plantas, a colonização endofítica natural ou artificial, por fungos entomopatogênicos, pode desempenhar um papel mais amplo do que se pensava anteriormente. Há relatos indicando que podem ser também benéficos para alguns aspectos da fisiologia da planta, como na melhoria do seu crescimento e desenvolvimento (Akutse et al., 2013; Klieber et al., 2016).

Dentre os inúmeros fungos utilizados como agentes de controle biológico, o *Trichoderma* é um dos gêneros mais estudados em todo o mundo. Embora não sejam usualmente tratados como fungos entomopatogênicos, os fungos do gênero *Trichoderma* são considerados importantes agentes de biocontrole devido ao seu antagonismo ativo contra vários fitopatógenos, e podem também influenciar positivamente a germinação das sementes e o crescimento vegetativo (Saito et al., 2009). Esses fungos produzem diversas substâncias antibióticas e parasitam outros fungos. Pesquisas revelam que eles promovem a simbiose com a planta, são oportunistas, não virulentos, e exercem o micoparasitismo. (Harman et al., 2004a; Harman et al., 2004b; Harman, 2006).

Segundo Hermosa et al. (2012), algumas linhagens de *Trichoderma* podem interagir diretamente com as raízes, aumentando o potencial de crescimento das plantas, a resistência às doenças e a tolerância a estresses abióticos. Além disso, também demonstram eficiência no aumento da resistência da planta ao baixo pH do solo e a temperaturas extremas; aumento da eficiência da ciclagem do nitrogênio; redução da superexpressão de genes de estresse ou acúmulo de compostos tóxicos durante a resposta da planta à patógenos (Lorito et al., 2010; Shores; Harman & Mastouri, 2010).

Nesse mesmo contexto, leveduras também têm sido usadas como agentes de biocontrole, pois fazem parte da microbiota epifítica e endofítica, e competem com agentes fitopatogênicos, por meio de diversos mecanismos antagônicos. Algumas leveduras, como a *Saccharomyces cerevisiae* (Meyen) inibem

fitopatógenos por apresentarem a atividade “killer”, que consiste na produção de toxinas extracelulares de composição glicolipídica ou glicoproteica com ação antifúngica sobre outras leveduras e/ou fungos filamentosos. Leveduras “killer” são imunes à atividade das próprias toxinas. Essas toxinas podem afetar diretamente a parede celular do microrganismo alvo, causando a morte do mesmo (Golubev, 2006).

Ademais, as leveduras são capazes de produzir quantidades consideráveis de ácido indolacético (AIA), uma classe de fitormônios conhecida por estimular de forma rápida, e em longo prazo, respostas nas plantas. E elas também estimulam o aumento da disponibilidade de nutrientes para as plantas, a solubilização de fosfato inorgânico, a produção de ácidos orgânicos, e a mineralização de fosfato orgânico, através de fosfatases. Esses fatores geram efeitos importantes no crescimento e desenvolvimento vegetal (El-Tarabily, 2004; Nutaratat et al., 2014).

Considerando que a inoculação de fungos endofíticos simbiotes é uma estratégia valiosa para a agricultura, devido ao seu potencial no controle de microrganismos patogênicos (Xu et al., 2011), assim como podem também contribuir para a melhoria no desenvolvimento da planta (Akutse et al., 2013; Klieber et al., 2016), o presente projeto visa avaliar a inoculação endofítica de *Trichoderma* e *Saccharomyces cerevisiae* no feijão *Phaseolus vulgaris* L., como parte do manejo integrado do fungo causador da ferrugem *Uromyces appendiculatus*, e como promotores do desenvolvimento da planta.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

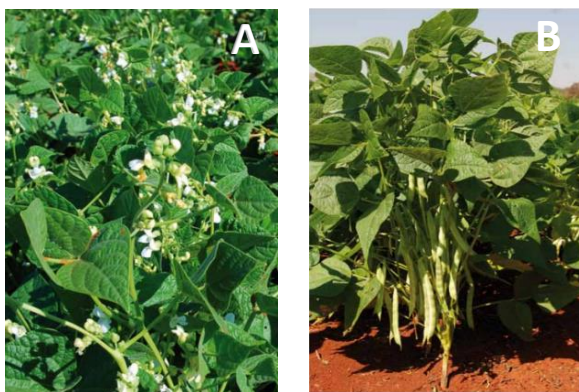
### **2.1 *Phaseolus vulgaris* (feijão comum)**

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) é cultivado, consumido e comercializado em quase todos os continentes. Dentre os Países que mais produzem estão a Índia, Mianmar, Brasil, Estados Unidos, China, Tanzânia, México, Quênia, Argentina, Uganda, Etiópia entre outros (FAO, 2021).

Ele é rico em fontes de proteínas, minerais, carboidratos e ferro. Diante disso, desempenham um papel importante na alimentação e nutrição da população brasileira uma vez que, traz benefícios a saúde e ao ser considerado

o amplo contingente de pequenos produtores, e a demanda de mão de obra em grandes plantações, também apresenta grande relevância socioeconômica para o País (CONAB, 2018; Suárez-martínez et al., 2016).

Normalmente uma variedade de feijão possui um ciclo de 90 dias, podendo haver algumas mais precoces com ciclo em torno de 75 dias (EMBRAPA, 2018). (Figura 1). As condições climáticas e o solo de cada região afetam diretamente a produção do feijão, ele é cultivado em distintas épocas do ano (Dalchiavon et al., 2016). Sendo elas denominadas época das águas onde a semeadura ocorre de agosto a outubro, na região Sul e Sudeste; da seca, que possui semeadura de janeiro a março na região Nordeste e Sudeste e a de inverno, com semeadura de maio a junho na região Sudeste do Brasil (Moreira et al., 2003).



**Fig 1.** Plantas de feijão-comum no processo de floração (A), e frutificação (B).

**Fonte:** Embrapa, 2018.

No Brasil a cultura de feijão ocupa posição de destaque na agricultura, estando presente em praticamente todos os estados. A principal região produtora de feijão é a região Sul com 28,1% da produção, com destaque para o Paraná responsável por 21% da produção. A segunda maior região é a Sudeste com 23,5%, com destaque para o estado de Minas Gerais com 17,2%, e a terceira maior região é o Centro-Oeste 23,4% sendo o maior estado produtor Mato Grosso com 13,4%. Seguidos pelo Nordeste 22,8% e Norte com 2,2% (CONAB, 2016). De acordo com o banco de dados da Organização para Agricultura e Alimentação (FAO) em 2020 a produção global do feijão como grão seco foi de cerca de 27,5 milhões de toneladas (FAO, 2020).

## 2.2 Ferrugem do feijoeiro

Assim como em outras plantas, a produção do feijão tem sido diretamente afetada por várias doenças ao longo do seu ciclo (Sendi et al., 2020). Os fungos se destacam entre os múltiplos organismos que podem estar relacionados a essas doenças por causar mais de 70% das principais patologias que atacam esses cultivos (Jain et al., 2019). Com base nisso, doenças fúngicas são as principais causadoras da redução da qualidade comercial de grãos e vagens, e conseqüentemente, perdas no rendimento das safras de feijão em todo o mundo o que traz prejuízo aos produtores (Jain et al., 2019; Yang et al., 2017).

Dentre essas doenças que atacam o feijoeiro, a ferrugem é considerada uma das mais prejudiciais, podendo causar prejuízos de até 45% na produção em cultivares vulneráveis, sob ambiente propício. A ferrugem é causada pelo fungo *Uromyces appendiculatus*, um parasita obrigatório que pertence ao Filo Basidiomycota, classe Teliomycetes da ordem Uredinales e família Pucciniceae (Jesus Junior et al., 2001; Itis, 2008).

A doença infecta principalmente as folhas, mas também pode ser encontrada em vagens, ramos e em todas as partes verdes da planta. Inicialmente, os sintomas são observados na superfície abaxial das folhas, após 6 a 7 da infecção, através de pequenas manchas esbranquiçadas “flecks” levemente protuberantes, recobertas pela cutícula da folha, essas manchas vão aumentando de tamanho, até romperem a epiderme entre 10 a 12 dias, formando pústulas maduras de cores marrom-avermelhadas, que caracterizam o sintoma típico. O fungo é autóico (completa todo o seu ciclo em um único hospedeiro), além de ser macrocíclico, produzindo alguns tipos de esporos: uredósporos, teliósporos, basidiósporos, picniósporos e aeciósporos. Os picnidiósporos e aeciósporos dificilmente são observados na natureza (Mcmillan et al., 2003).

O fungo é de incidência mundial. Entretanto, a doença é favorecida nas regiões com temperaturas entre 17 e 27°C e umidade relativa do ar em torno de 95%, o que promove maiores perdas nas regiões tropicais e subtropicais úmidas. As temperaturas mais adequadas para a germinação dos uredósporos estão entre 12,5 e 22°C (Mcmillan et al., 2003).

### 2.3 Fungos entomopatogênicos

Atualmente houve um crescimento significativo nas pesquisas que visam produtos com menores impactos ambientais, aumentando o uso de produtos de controle biológico (Fontes et al., 2020; Parra, 2014), que consiste no uso de técnicas baseadas no controle com inimigos naturais (Escobar-Ramírez et al., 2019). Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no Brasil o uso de produtos biológicos teve um aumento de mais de 70% no ano de 2018, colocando o país entre os primeiros no uso de controle biológicos (MAPA, 2020).

Neste sentido, o uso de fungos entomopatogênicos pode ser uma alternativa para o controle biológico com baixo impacto ambiental, uma vez que eles são capazes de colonizar espécies de pragas, acarretando epizootias (doenças que podem interferir na alimentação e reprodução de insetos e ácaros, levando-os à morte). Essa prática vem sendo empregada no Brasil desde 1920 e se mostra com baixo ou nenhum risco para a saúde humana e animal (Valadares-Inglis et al., 2020).

Alguns fungos se comportam como agentes de doenças em plantas através do estabelecimento de relações patógeno-hospedeiro. Da mesma forma há o estabelecimento de relação entomopatogênica de parasitismo de outros fungos com os insetos. Assim sendo, essa relação compreende as fases de adesão ao corpo do inseto, germinação do tubo, formação de apressórios, formação do grampo de penetração, penetração, colonização e reprodução (Almeida et al., 2004).

O inseto se contamina por ingestão ou por contato direto com o fungo, e os sintomas são caracterizados pelo aparecimento de manchas escuras pelo corpo, paralisação da alimentação, paralisia geral e perda de coordenação dos movimentos. A forma de ataque se dá principalmente por parasitismo, embora possa ocorrer a morte dos insetos por toxinas produzidas por esses fungos (Valicente, 2009).

Essas toxinas provêm da sintetização de enzimas hidrolases, tais como lipases, proteases, quitinases, glucanases, entre outras, que são capazes de degradar a barreira físico-química altamente eficiente na proteção do corpo deles, chamada de tegumento. Além dessas enzimas, os entomopatogênicos

podem produzir metabólitos secundários, que são compostos não essenciais para o seu crescimento e desenvolvimento. Esses microrganismos possuem uma capacidade superior de produzir essas substâncias em relação a outros fungos, podendo chegar a 73% de maior eficiência. Os metabólicos secundários além de poderem se comportar substâncias tóxicas para os insetos, também podem resultar em substâncias de interesse para o desenvolvimento de produtos de controle de pragas (Specian et al., 2014; Cafêu et al., 2005).

## **2.4 Endofítia**

O termo endófito foi definido pela primeira vez por Heinrich Anton de Bary em 1866 como qualquer organismo que cresce dentro de tecidos vegetais. Na literatura, Petrini em 1991, descreveu os microrganismos endofíticos como aqueles que colonizam o interior das plantas, no mínimo por parte do seu ciclo de vida, sem lhes causar prejuízos, sendo que tal colonização pode ser vista através de um microscópio de luz ou eletrônico. Entretanto, adiante a definição desses fungos foi ampliada, e então os endófitos foram considerados como aqueles, cultiváveis ou não, que habitam o interior vegetal sem causar prejuízo à planta hospedeira (Azevedo et al., 2007)

Fungos endofíticos produzem constantemente substâncias que elevam a capacidade de defesa, tanto para si como para as plantas que os hospedam (Silva, 2017). Segundo Ferraz et al. (2016), os endófitos são produtores de metabólitos secundários que são de grande importância para a agricultura, além de proporcionar uma série de outros benefícios para a humanidade. Os compostos produzidos por esses fungos, podem ser agrupados em várias categorias, como: alcaloides, esteroides, terpenoides, isocumarinas, quinonas, fenilpropanoides, ligninas, fenol e ácidos fenólicos, metabólitos alifáticos, lactonas (Oliveira et al., 2015), além de outros produtos metabólicos com atividades biológicas diferentes, dentre elas, se destacam: atividades antioxidantes (Wang et al., 2016), citotóxicas (Orlandelli et al., 2017), antimicrobianas (Orlandelli et al., 2015; Polonio et al., 2015), antiparasitária (Martínez-Luis et al., 2012), aumento da resistência vegetal ao estresse hídrico (Chapla et al., 2013) e controle de pragas (Lacava & Azevedo, 2014; Ribeiro et al., 2018).

Ademais, fungos endofíticos também são uma rica fonte de compostos bioativos, como hormônios vegetais (auxina, giberelinas) e enzimas hidrolíticas (celulases, proteases, quitinases) que além de serem importantes para a sobrevivência e manutenção dos mesmos, também contribuem para a saúde da planta hospedeira e tolerância a ambientes e situações estressantes (Eid et al., 2019).

Vários gêneros de fungos entomopatogênicos foram isolados como endófitos em diversas plantas. Por meio de estudos em que foi analisado o desempenho dos insetos nas plantas que contêm fungos endofíticos entomopatogênicos, pressupõe-se que a existência de fungos em tecidos de plantas interfere na alimentação ou antibiose (Vega, 2008). Para a indústria biotecnológica a utilização de microrganismos endofíticos é uma das alternativas que podem substituir ou diminuir o uso dos pesticidas tradicionais, tendo o objetivo de diminuir as infecções de patógenos, população de pragas como insetos e nematoides e através das substâncias produzidas por esses fungos há um potencial de estimular o desenvolvimento vegetal (Backman & Sikora, 2008).

## **2.5 *Trichoderma***

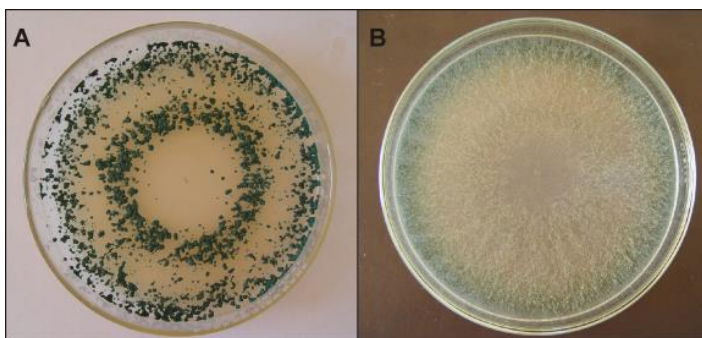
O *Trichoderma* pertence ao Reino Fungi; Filo Ascomycota; Ordem Hypocreales; Família Hypocreaceae. O gênero abrange um número grande de espécies que se reproduzem de forma assexuada; distribuídos em solos de regiões de clima temperado e tropical (Machado et al., 2012; Nieto-Jacob et al., 2017). (Figura 2).

Esses fungos agem de forma endofítica (não são prejudiciais às plantas), além de possuírem uma ampla distribuição geográfica, antagonismo a uma vasta gama de fitopatógenos, grande capacidade de reprodução, resistência a intempéries e habilidade de se desenvolver em vários tipos de substratos e ambientes. Tais características tornam atraentes as espécies desse gênero como agentes de controle biológico (Meyer et al., 2019; Haddad et al., 2017; Marques et al., 2018).

Assim como na maioria dos fungos entomopatogênicos endofíticos, os mecanismos de defesa do *Trichoderma* envolvem a competição; um meio de ação importante em razão da eficiência mostrada por linhagens desse fungo em

colonizar os substratos, e a habilidade para utilizar à seu favor uma diversidade de nutrientes e à vulnerabilidade de muitos fungos fitopatogênicos diante da falta de alguns desses nutrientes; a antibiose, onde através da produção de metabólitos secundários (tóxicos) ele inibe outros microrganismos patogênicos que também se desenvolvem no solo; e o parasitismo, quando o *Trichoderma* responde aos estímulos químicos produzidos pela hifa do patógeno hospedeiro e crescem em direção à eles. Em diversos casos o hiperparasita é capaz de se enrolar em toda a extensão do patógeno, entrar nas células e digerir todo o seu conteúdo (Machado et al., 2012; Kottb et al., 2015; Chen et al., 2016; González & Fuentes, 2017).

Ademais, algumas linhagens de *Trichoderma*, além de possuírem habilidade para impedir o crescimento de fitopatógenos, são capazes de estimular resistência sistêmica (RSI) a doenças e/ou promover o crescimento das plantas, uma vez que, são responsáveis pela germinação das sementes, ramificação e crescimento de raízes, brotação de estacas, crescimento de ramos, incremento de área foliar e aumento no rendimento das culturas. A promoção de crescimento e a indução de resistência de plantas são podem ser resultado da atividade do agente de biocontrole sobre o patógeno (Mello et al., 2020).



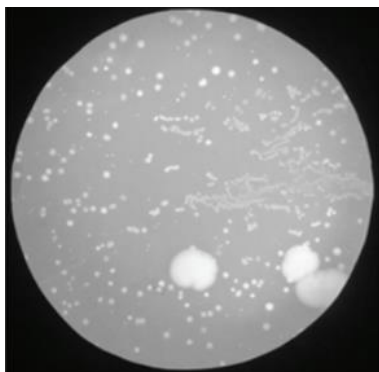
**Fig 2.** Colônias de *Trichoderma* em meio de cultura (superior A e inferior B).  
**Fonte:** Embrapa, 2019.

## 2.6 *Saccharomyces cerevisiae*

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 3) é um organismo unicelular modelo para biologia celular, seu uso biotecnológico é comumente mais conhecido na produção de alimentos e bebidas. Mas, ela também é um



agente promissor de biocontrole, devido a sua percepção como um organismo seguro que pode ser mais facilmente registrado e também pela viabilidade de análises moleculares. Geralmente, isolados de *S. cerevisiae* exibem atividade antifúngica intermediária contra outras variedades de fungos e em comparação com uma vasta coleção de isolados de leveduras selvagens (Hilber-Bodmer et al., 2017).



**Fig 3.** Colônias de *S. cerevisiae* incubadas em placa de Petri. **Fonte:** Martins et al. (2015).

As formas de atuação da *S. cerevisiae* no controle de pragas e doenças em plantas se dão pela competição por espaço e nutrientes, antibiose, parasitismo, indução de resistência e promoção de crescimento (Medeiros et al., 2018). Elas também possuem capacidade de aproveitamento de nutrientes, o que faz com que sua multiplicação e colonização seja rápida, colonizando toda a superfície da folha, isso altera a disponibilidade de nutrientes, água e outros elementos, prejudicando ou impedindo a infecção de patógenos (Spadaro et al., 2004). As leveduras também são capazes de produzir compostos voláteis e/ou não voláteis, que impedem o crescimento de patógenos (Dias, 2011).

Outro mecanismo de biocontrole utilizado pela *S. cerevisiae* é a atividade killer, que consiste na produção de toxinas de caráter proteico, letais às células receptoras. Os efeitos dessas toxinas sobre as células afetadas se dão após duas ações básicas: a ligação da toxina aos receptores específicos da parede celular e membrana plasmática e transporte para o citoplasma. Quando entram na célula, as toxinas killer aumentam a permeabilidade da membrana plasmática, levando à ruptura e conseqüentemente a perda de íons potássio

(K+), ATP e metabólitos intracelulares; impedindo a síntese dos componentes principais da parede celular como glicanas e quitina e de DNA, além de bloquear a fase G1 do ciclo celular de reprodução (Golubev et al., 2006).

Já a promoção de crescimento é decorrente da produção de hormônios vegetais que atuam diretamente sobre a planta e estimulam seu desenvolvimento. Segundo Rao et al. (2010), ao estudar a população de leveduras, foi possível observar a produção de ácido indolacético (AIA), que se trata de um tipo de auxina capaz de atuar na divisão, alongamento e diferenciação celular, e funciona como regulador do crescimento. O AIA produz as gemas apicais, gemas laterais, ápice das raízes e frutos e folhas jovens, estimulam o desenvolvimento radicular, entre outras funções.

### **3. OBJETIVOS**

O objetivo do presente projeto foi avaliar se a inoculação de *Trichoderma* e levedura *Saccharomyces cerevisiae* em sementes de feijão teriam o efeito de:

- i. Controlar a incidência do fungo da ferrugem *Uromyces appendiculatus*
- ii. Estimular o desenvolvimento da planta.

### **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **4.1 - Local de trabalho**

O estudo foi realizado na casa-de-vegetação do Departamento de Engenharia de Biosistemas – DEPEB, localizada no Campus Tancredo Neves (CTAN) da Universidade Federal de São João del Rei.

#### **4.2 Obtenção do Patógeno**

O fungo *U. appendiculatus* foi obtido a partir de folhas de feijão contaminadas, coletadas a campo, as quais foram selecionadas por exibirem pústulas marrons com halo amarelo em volta das lesões, sintomas típicos da ferrugem (Figura 4).



**Fig 4.** Contaminação por fungo *Uromyces appendiculatus*, em plantas de feijão, utilizada na produção do extrato para pulverização. Foto da autora.

### **4.3 Obtenção dos fungos benéficos**

O fungo *Trichoderma*, foi adquirido por meio de formulação comercial, obtido em lojas de produtos agrícolas. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi obtida por meio de formulação comercial empregada em produtos de panificação.

### **4.4 Inoculação dos fungos**

Foram utilizadas sementes de feijão comum para inoculação dos fungos. As mesmas foram desinfetadas com hipoclorito de sódio a 1% por 3 minutos, enxaguadas três vezes em água e secas ao ar durante 24 horas. Para inocular essas sementes, foram utilizados os fungos *Trichoderma* e *S. cerevisiae* adquiridos de linhagens comerciais. Os mesmos foram diluídos em água, em placas de petri.

#### **4.4.1 Método de inoculação dos fungos benéficos - Imersão de sementes**

As sementes desinfetadas e já secas, foram imersas na solução diluída e mantidas, nessa condição, por 5 minutos. E então, foram colocadas em placas de Petri secas e limpas, seguindo os tratamentos que foram propostos e consistiam e inoculação dos fungos juntos e também separados. Após esse processo, as mesmas foram colocadas novamente para secar ao ar por mais 24 horas. Após esse período foram levadas para a casa de vegetação onde foram plantadas.

#### 4.4.2 Método de inoculação do fungo patogênico – Pulverização

Foi preparado um extrato com as folhas contaminadas com o fungo patogênico. As mesmas foram trituradas e diluídas, em seguida a solução derivada desse processo foi adicionada a um pulverizador manual (Figura 5).



**Fig 5.** Pulverizador manual utilizado na contaminação do patógeno nos tratamentos selecionados. Foto da autora.

#### 4.5 Delineamento Experimental

As sementes foram plantadas em vasos plásticos de 1L. Inicialmente foram plantados 42 vasos de cada tratamento (*Trichoderma*; *S. cerevisiae*, Controle; *Trichoderma* + *S. cerevisiae*), totalizando 168 vasos.

Após 40 dias os vasos de cada tratamento que germinaram foram divididos pela metade e então foi realizada a pulverização do extrato contendo o fungo patogênico nos tratamentos que foram selecionados para recebê-los. Houve duas pulverizações, com intervalo de 4 dias.

Ao todo foram oito tratamentos, sendo vasos com: 1) sementes inoculadas com *Trichoderma* e com fungo patogênico; 2) sementes inoculadas com *Trichoderma* e sem fungo patogênico; 3) sementes inoculadas com *S. cerevisiae* e com fungo patogênico; 4) sementes inoculadas com *S. cerevisiae* e sem fungo patogênico; 5) sementes inoculadas com *Trichoderma* + *S. cerevisiae* e com fungo patogênico; 6) sementes inoculadas com *Trichoderma* + *S. cerevisiae* e sem fungo patogênico; 7) controle, sementes não-inoculadas com

fungo patogênico nem com fungos benéficos e 8) controle, sementes inoculadas com fungo patogênico e não-inoculadas com fungos benéficos.

Para análise dos resultados foram medidas as seguintes variáveis:

- a) O índice de infestação foliar pela ferrugem;
- b) Peso seco da planta – todas as plantas de cada tratamento, que germinaram e cresceram foram cortadas na base do caule, secas em estufa a 55 °C por cinco dias e pesadas em balança de precisão;
- c) Produção de vagens e sementes – Todas as plantas de cada tratamento tiveram seu número de vagens quantificado, essas vagens foram pesadas juntamente de acordo com o tratamento.

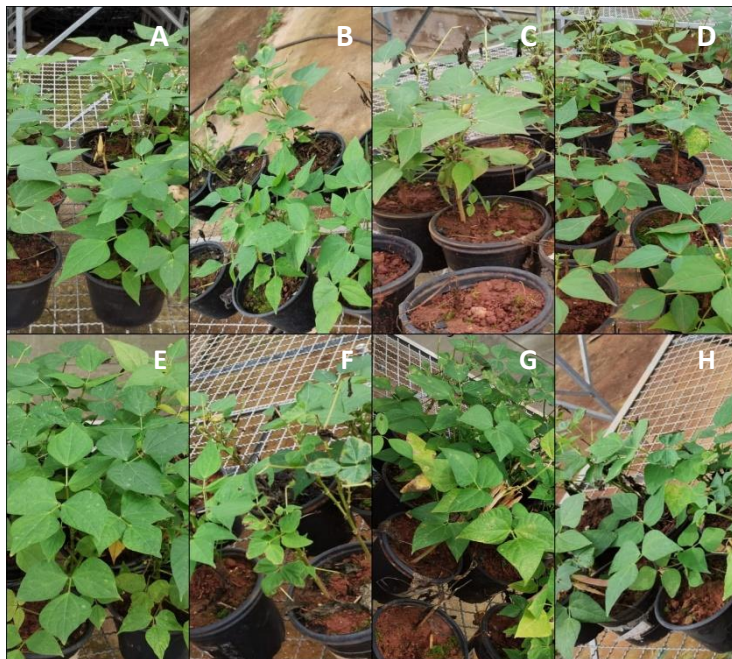
Os dados foram inicialmente submetidos às análises de normalidade e homogeneidade de variância. Em seguida, à análise de variância (ANOVA) bifatorial, seguida pelo teste de média de Tukey a 5%.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar da pulverização com o extrato foliar de plantas supostamente infestadas, não houve infestação foliar pelo fungo da ferrugem *U. appendiculatus*, visualmente identificada, em nenhum dos tratamentos, incluindo os controles (Figura 6). De fato, esse fator não afetou significativamente o desenvolvimento das plantas ( $P = 0,76$ ). Por outro lado, a inoculação das sementes com fungos benéficos afetou o desenvolvimento das plantas ( $P > 0,001$ ) (Tabela 1). No entanto, o efeito foi exclusivo da levedura *S. cerevisiae*, não tendo sido encontrado efeito da inoculação de *Trichoderma*. Ainda assim, o efeito da levedura foi negativo, diminuindo o desenvolvimento das plantas, tanto aplicada isoladamente quanto em associação com *Trichoderma*. (Figura 7). O efeito ocorrido foi, portanto, contrário ao efeito benéfico esperado.

Segundo Gautam (2021), inoculação de sementes com microrganismos é uma boa alternativa para substituir defensivos químicos, com a intenção de melhorar a qualidade da semente, além de acelerar a germinação e protegê-las de estresses abióticos e bióticos. Entretanto, este estudo obteve evidência comprobatória para essa afirmação. Existem limitações que reduzem a densidade do inóculo ou diminuem a sua capacidade de colonizar a hospedeira, como altas temperaturas, tratamentos químicos e compostos aleloquímicos que

são produzidos na germinação por algumas espécies (Gautam, 2021; Lopes et al., 2021). O que mostra a necessidade de pesquisas com outros métodos de inoculação de microrganismos endofíticos nas plantas.



**Fig 6.** Plantas de feijão pulverizadas com fungo da ferrugem, as quais não resultaram em infestação do patógeno. Tratamentos: (A) TC; (B) TS; (C) SC; (D) SS; (E) TSC; (F) TSS; (G) CC e (H) CS. Fotos da autora.

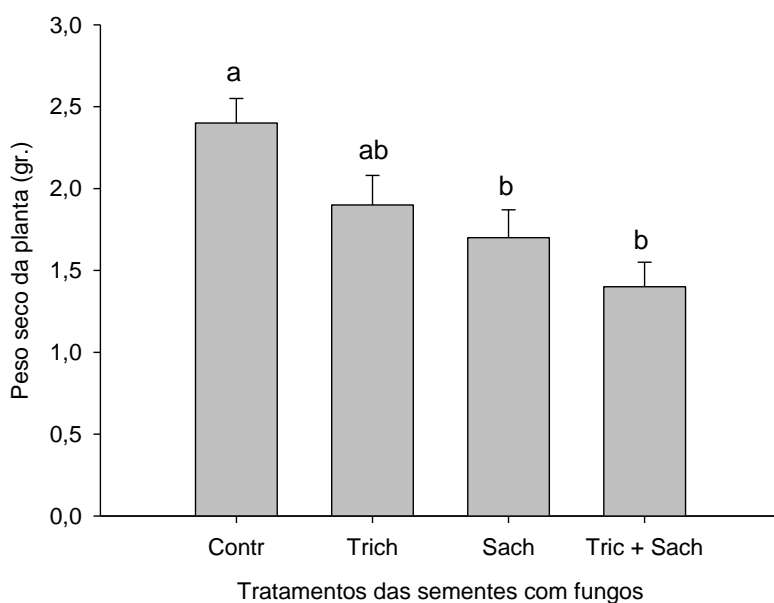
**Tabela 1.** Análise de variância bifatorial do peso seco da parte aérea de plantas de feijão *Phaseolus vulgaris* em resposta ao tratamento inicial de sementes com inoculação isolada e conjugada dos fungos *Trichoderma* e *Saccharomyces cerevisiae* e posterior tratamento por inoculação foliar de plantas jovens com o fungo fitopatogênico da ferrugem *Uromyces appendiculatus*.

Fonte de variação	F	P
Inoculação de sementes	7,0	< 0,001
Inoculação foliar com patógeno	0,1	0,76
Interação inoculações semente x foliar	1,3	0,27

A afirmação de Mello et al. (2020), onde ele alega que o *Trichoderma* pode proporcionar o crescimento das plantas, ao ser responsável pela

germinação das sementes, ramificação e crescimento de raízes, brotação de estacas, crescimento de ramos, incremento de área foliar e aumento no rendimento das culturas; pode ser contestada por este estudo, em que a aplicação desse fungo não afetou o desenvolvimento da planta em relação ao tratamento controle. Entretanto os autores também alegam que a promoção de crescimento e a indução de resistência de plantas podem resultar da atividade do agente de biocontrole sobre o patógeno e nesse caso não houve infestação do patógeno.

Já na inoculação com *S. cerevisiae*; Rao et al. (2010) afirma que esses microrganismos sejam capazes de produzir hormônios vegetais que atuam diretamente sobre a planta e estimulam seu desenvolvimento. Porém, o presente estudo não permite recomendar leveduras *S. cerevisiae* para inoculação de sementes em plantas de feijão.



**Figura 7.** Diferenças no peso seco da parte aérea de plantas de feijão *Phaseolus vulgaris* em resposta ao tratamento de sementes com inoculação isolada e conjugada dos fungos *Trichoderma* sp. e *Saccharomyces cerevisiae*. Letras iguais sobre colunas indicam diferença não-significativa entre tratamentos pelo teste de Tukey a 5%.

## 6. CONCLUSÕES

Por não ter havido infestação do patógeno neste estudo, foi inviável analisar a capacidade de atuação dos fungos *Trichoderma* e *S. Cerevisiae* como agentes de controle biológico. Por outro lado, os resultados obtidos da ação desses fungos no crescimento e desenvolvimento vegetal não foram positivos, contrariando a literatura e mostrando que em determinadas situações além de não contribuírem beneficemente com as plantas, podem ser prejudiciais para as mesmas. Portanto, fica evidente a necessidade de pesquisas com outros métodos alternativos de inoculação de fungos endofíticos nas plantas, visando a sustentabilidade na agricultura.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKUTSE, K.S.; MANIANIA, N.K.; FIABOE, K.K.M.; VAN DEN BERG, J.; EKESI, S. **Endophytic colonization of vicia faba and Phaseolus vulgaris (Fabaceae) by fungal pathogens and their effects on the life-history parameters of Liriomyza huidobrensis (Diptera: Agromyzidae).** Fungal Ecol. 6, 293–301, 2013.
- ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A.; SANTOS, A. S. **Controle da Cigarrinha da Raiz da Cana-de-Açúcar, Mahanarva Fimbriolata, com o fungo entomopatogênico Metarhizium Anisopliae.** Rev. STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos, Piracicaba, v. 22, n. 4, p. 42-45, 2004.
- CAFÊU, M.C. **Estudo Químico e Avaliação Biológica dos Fungos Endolíticos, Xylaria sp. e Colletotrichum Crassipes Isolados de Casearia Sylvestris (Flacourtiaceae).** 255 f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação do Instituto Química, Unesp, Araraquara, 2007.
- CHEN, J.L.; SUN, S.Z.; MIAO, C.P.; WU K.; CHEN, Y.W.; XU, L.H.; GUAN, H.L.; ZHAO, L.X. **Endophytic Trichoderma gamsii YIM PH30019: a promising biocontrol agent with hyperosmolar, mycoparasitism, and antagonistic activities of induced volatile organic compounds on root-rot pathogenic**



**fungi of Panax notoginseng.** Journal of Ginseng Research 40: 315-324, 2016.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos.** v 3 – Safra 2015/16, n. 12 – Décimo Segundo Levantamento, set 2016.

CONAB - **Indicadores da Agropecuária.** Observatório Agrícola, 2018.

DALCHIAVON, F.C.; NEVES, G.E.; HAGA, K.I. **Efeito de estresse salino em sementes de Phaseolus vulgaris.** Revista de Ciências Agrárias, Pernambuco, v. 39, n. 3, p. 404412, 2016.

DELGADO, P.A.M.; MURCIA, O.P. **Hongos entomopatógenos como alternativa para la obtención de Biopesticidas.** Ambi-Agua, v.6, p.77-90, 2011

DIAS, P.P. **Controle biológico de fitopatógenos de solo por meio de isolados de fungos do gênero Trichoderma e sua contribuição no crescimento de plantas.** 2011, 101f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (EFRRJ). 2011.

EL-TARABILY, K.A. **Suppression of Rhizoctonia solani diseases of sugar beet by antagonistic and plant growth-promoting yeasts.** Journal of Applied Microbiology, v.96, p.69–75, 2004.

ESCOBAR-RAMÍREZA, S., GRASSA, I., ARMBRECHT, I., TSCHARNTK, T. **Biological control of the coffee berry borer: Main natural enemies, control success, and landscape influence.** Biological Control, 136, 103992, 2019.

FAOESTAT. Home Page, 2020. Disponível em: < <http://faostat3.fao.org>>.

FONTES, E.M.G.; PIRES, C.S.S.; SUJI, E.R. **Estratégias de uso e histórico.** In FONTES, E. M.G.; VALADARES-INGLIS, M.C. (eds) – Brasília, DF: Embrapa. 21-44, 2020.

GAUTAM, N. **Seed Coating with Beneficial Microbes for Precision Farming.** International Journal of Modern Agriculture, 10, 1. 2021.

- GOLUBEV, W.I. **Antagonistic interactions among yeasts.** In: ROSA, C.A.; PETER, G. (Org.). **The yeast handbook: biodiversity and ecophysiology of yeasts.** Berlin: Springer. p.197- 219, 2006.
- GONZÁLEZ, F.H.; FUENTES, M.N. **Mecanismo de acción de cinco microorganismos promotores de crecimiento vegetal.** Revista de Ciências Agrícolas 34: 17-31, 2017.
- GURULINGAPPA, P.; SWORD, G.A.; MURDOCH, G.; MCGEE, P.A. **Colonization of crop plants by fungal entomopathogens and their effects on two insect pests when in planta.** Biol. Control 55, 34-41, 2010.
- HADDAD, P.E.; LEITE, L.G.; LUCON, C.M.M.; HARA KAVA, R. **Selection of Trichoderma spp. strains for the control of Sclerotinia sclerotiorum in soybean.** Pesquisa Agropecuária Brasileira 52: 1140-1148, 2017.
- HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. **Trichoderma species - opportunistic, avirulent plant symbionts.** Nature Reviews Microbiology, v. 2, n. 1, p.43-56, 2004a.
- HARMAN, G.E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. **Interactions between Trichoderma harzianum strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of this interaction on diseases caused by Pythium ultimum and Colletotrichum graminicola.** Phytopathology, v.94, p.147-153, 2004b.
- HARMAN, G.E. **Overview of mechanisms and uses of Trichoderma spp.** In **Symposium the Nature and Application of Biocontrol Microbes II: Trichoderma spp.** Phytopathology, v.96, p.190-194, 2006.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. **Plant-beneficial effects of Trichoderma and of its genes.** Microbiology, v.158, p. 17–25, 2012.
- HILBER-BODMER, M.; SCHIMID, M.; AHRENS, C.H.; FRIMOSER, F.M. **Competition assays and physiological experiments of soil and phyllosphere yeasts identify Candida subhashii as a novel antagonist of filamentous fungi.** BMC Microbiol 17:4, 2017.
- ITIS, Integrated Taxonomic Information System. Disponível em: < [www . itis .usda.gov](http://www.itis.usda.gov) >.

- JESUS JUNIOR, W.C.; VALE, F.X.R.; MARTINEZ, C.A.; COELHO, R.R.; COSTA, L.C.; HAU, B.; ZAMBOLIM, L. **Effects of angular leaf spot and rust on leaf gas exchange and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris*)**. *Photosynthetica* 39:603-606. 2001.
- KLIEBER, J.; REINEKE, A. **The entomopathogen *Beauveria bassiana* has epiphytic and endophytic activity against the tomato leaf miner *Tuta absoluta***. *J. Appl. Entomol.* 140, 580–589, 2016.
- KOTTB, M.; GIGOLASHVILI, T.; GROSSKINSKY, D.; PIECHULLA, B. **Trichoderma volatiles effecting Arabidopsis: from inhibition to protection against phytopathogenic fungi**. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1-14, 2015.
- LOPES, M.J.S.; DIAS-FILHO, M.B.; GURGEL, E.S.C. **Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors**. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5 (606454), 1-13, 2021.
- LORITO, M.; WOO, S.L.; HARMAN, G.E.; MONTE, E. **Translational Research on Trichoderma: From ‘Omics to the Field’**. *Rev. Phytopathol.*, v.48, p.1–19, 2010.
- 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* 35: 274-288, 2012.
- MAPA. (2020). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Recuperado de <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/bioinsumos/producao-vegetal/produtosfitosanitarios>.
- MARQUES, E.; MARTINS, I.; MELLO, S.C.M. **Antifungal potential of crude extracts of *Trichoderma* spp.** *Biota Neotropica* 18: 1-5, 2018.
- MCMILLAN, M.S., SCHWARTZ, H.F., OTTO, K.L. **Sexual stage development of *Uromyces appendiculatus* and its potential use for disease resistance screening of *Phaseolus vulgaris***. *Plant Disease*, v. 87, p. 1133-1138, 2003.

- MEDEIROS, F.H.V.; SILVA, J.C.; PASCHOLATI, S.F. **Controle biológico de doenças de plantas**. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia. Volume 1: Princípios e Conceitos. 5. ed. São Paulo: Ceres. p. 261- 274, 2018.
- MELLO, S.C. M.; ECKSTEIN, B.; MARQUES, E.; CARVALHO, D.D.C. **Controle de Doenças de Plantas**. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Org.). **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. 1ed. Brasília: Embrapa, p.291-325, 2020.
- MELO, J.O.; ENDO, T.H.; BERSANI-AMADO, L.E.; SVIDZINSKI, A.E.; BARONI, S.; MELLO, J.C.P.; BERSANI-AMADO, C.A. **Effect of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) bark on animal models of nociception**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, v. 43, n. 3, p. 465-469, 2007.
- MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. **Trichoderma: uso na agricultura**. Embrapa Arroz e Feijão; Embrapa Soja. Brasília, DF: Embrapa. 536 p, 2019.
- MOREIRA, J.A.A.; STONE, L.F.; BIAVA, M. **Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 203 p. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas), 2003.
- NIETO-JACOBO, M.F.; STEYAERT, J.M.; SALAZAR-BADILLO, F.B.; VI NGUYEN, D.; ROSTÁS, M.; BRAITHWAITE, M.; DE SOUZA, J.T.; JIMENEZ-BREMONT, J.F.; OHKURA, M.; STEWAR, A.; MENDOZA-MENDOZA, A. **Environmental Growth Conditions of *Trichoderma* spp. Affects Indole Acetic Acid Derivatives, Volatile Organic Compounds, and Plant Growth Promotion**. Frontiers in Plant Science 8: 1-18, 2017.
- NUTARATAT, P.; SRISUK, N.; ARUNRATTIYAKORN, P.; LIMTONG, S. **Plant growth-promoting traits of epiphytic and endophytic yeasts isolated from rice and sugar cane leaves in Thailand**. Fungal Biology, v.118, p.683–694, 2014.
- PARRA, J.R.P. **Biological Control in Brazil: an overview**. Scientia Agricola, 71(5), 420-429, 2014.

- PIGNATI, W.A.; SOUZA.; LIMA, F.A.N.; LARA, S.S.; CORREA, M.L.M.; BARBOSA, J.R.; LEÃO, L.H.C.; PIGNATTI, M.G. **Spatial distribution of pesticide use in Brazil: a strategy for health surveillance.** *Cienc. Saude Colet.* 22, 3281–3293, 2017.
- RAO, R.P.; HUNTER, A.; KASHPUR, O.; NORMANLY, J. **Aberrant synthesis of indole3-acetic acid in *Saccharomyces cerevisiae* triggers morphogenic transition, a virulence trait of pathogenic fungi.** *Genetics*, v. 3, n. 1, p. 211–220, 2010.
- SAITO, L.R.; SALES, L.L.S.R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M.S.; REFFATTI, T. **Aspects of the effects of the fungus *Trichoderma* spp. in biocontrol of pathogens of agricultural crops.** *Applied Research and Agrotechnology*, v.2, n.3, p.203-216, 2009.
- SERRANO, J.; GOÑI, I. **Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población guatemalteca.** *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v. 54, p. 36-44, 2004.
- SHORESH, M.; HARMAN, G.E.; MASTOURI, F. **Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents.** *Annual Review Phytopathology*. v. 48, p.21–43, 2010.
- SPADARO, D.; GULLINO, M.L. **State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases.** *International Journal of Food Microbiology*, v. 91, n. 2, p. 185-194, 2004.
- SPECIAN, V.; ORLANDELLI, R.C.; FELBER, A.C.; AZEVEDO, J.L.; PAMPHILE, J.A. **Metabólitos secundários de interesse farmacêutico produzidos por fungos endolíticos.** *Unopar Científica. Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina, v. 16, n. 4, p. 345-29 69 351, 2014.
- SUÁREZ-MARTÍNEZ, S.E.; FERRIZ-MARTÍNEZ, R.A.; CAMPOS-VEGA, R.; ELTON-PUENTE, J.E.; CARBOT, K.T.; GARCÍA-GASCA, T. **Bean seeds: leading nutraceutical source for human health.** *CyTA - Journal of Food*, v. 14, n. 1, p. 131–137, 2016.

- VALADARES-INGLIS, M.C.; LOPES, R.B.; FARIA, M. **Controles de artópodes-praga com fungos entomopatogênicos.** In FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. (eds), Brasília, DF: Embrapa. 201-236, 2020.
- VALICENTE, F.H. **Controle Biológico de Pragas com Entomopatógenos.** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, V.30, n. 251, p. 48-55, 2009.
- VEGA, F.E.; POSADA, F.; AIME, M.C.; PAVA-RIPOLL, M.; INFANTE, F.; REHNER, S.A. **Entomopathogenic fungal endophytes.** Biol. Control. 46, 72–82, 2008
- VEGA, F.E. **The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: A review.** Mycologia.110, 4–30, 2018.
- VIEIRA, C.; BORÉM, A.; RAMALHO, M.A.P.; CARNEIRO, J.E.S. **Melhoramento do feijão.** In: BORÉM, A. (Ed). **Melhoramento de espécies cultivadas.** Viçosa: UFV. Viçosa, Minas Gerais. p.301-391, 2005.
- WANDER, A.E. **Produção e consumo de feijão no Brasil, 1975–2005.** Informe Econômico, v.37, n.2, p.7–21, 2007.
- XU, X.M.; JEFFRIES, P.; PAUTASSO, M.; JEGER, M.J. **Combined use of biocontrol agents to manage plant diseases in theory and practice.** Phytopathology, v.101, n.9, p.1024-1031, 2011.