UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

RENATA ARIEL FRAGOSO SILVA

ATIVIDADE ANTAGÔNICA DE METABÓLITOS VOLÁTEIS E NÃO VOLÁTEIS PRODUZIDOS POR *Trichoderma* spp. CONTRA FITOPATÓGENOS DO FEIJÃO-COMUM

RECIFE
2024

RENATA ARIEL FRAGOSO SILVA

ATIVIDADE ANTAGÔNICA DE METABÓLITOS VOLÁTEIS E NÃO VOLÁTEIS PRODUZIDOS POR *Trichoderma* spp. CONTRA FITOPATÓGENOS DO FEIJÃO-COMUM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestra em Biologia de Fungos.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Patricia Vieira Tiago

Coorientadora: Dr.ª Luciana Gonçalves de Oliveira

RECIFE

2024

Catalogação na Fonte
Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva
CRB4/1381

Silva, Renata Ariel Fragoso .
Atividade antagônica de metabólitos voláteis produzidos por *Trichoderma spp*. Contra fitopatógenos do feijão-comum. / Renata Ariel Fragoso Silva. – 2024

64 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Patricia Vieira Tiago
Cooreintadora: Luciana Gonçalves de Oliveira.

.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, 2024.

Inclui referência.

1. Biocontrole. 2. Fusarium spp. 3. Macrophomina phaseolina. 4. Metabólitos secundários. 5. Phaseolus vulgaris. I.Tiago, Patricia Vieira (Orient.). II.Oliveira, Luciana Gonçalves de (Coorient,). III.Título.

579.5 CDD (22.ed.) UFPE/CB – 2024-071

RENATA ARIEL FRAGOSO SILVA

ATIVIDADE ANTAGÔNICA DE METABÓLITOS VOLÁTEIS E NÃO VOLÁTEIS PRODUZIDOS POR *Trichoderma* spp. CONTRA FITOPATÓGENOS DO FEIJÃO-COMUM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestra em Biologia de Fungos

Aprovado em: 28/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

_____
Profª. Drª. Patricia Vieira Tiago (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

_____
Profª. Drª Neiva Tinti de Oliveira (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

_____
Drª Jamilly Alves de Barros (Examinador Externo)
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco – UFAPE

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Ti, Deus, autor da vida e criador de todas as coisas, que me sustentou nos momentos de desafio e iluminou os caminhos com Sua luz divina. Em Sua infinita bondade, encontrei força e consolo.

À minha amada Nossa Senhora, Mãe celestial e intercessora de minhas súplicas, agradeço por seu olhar compassivo e maternal que sempre envolveu minha jornada. Em cada passo, senti Sua proteção amorosa, guiando-me com ternura e encorajando-me a superar obstáculos.

À minha família, expresso minha profunda gratidão pelo apoio incondicional, compreensão e incentivo ao longo dos anos. Vocês foram a base sólida que sustentou cada passo desta caminhada.

Aos meus amigos, em especial Carol e Ray, cuja amizade foi um refúgio e fonte de alegria, agradeço por estarem sempre presentes, compartilhando risos, desafios e conquistas.

À minha orientadora, Patricia, agradeço por seu acolhimento, orientação acadêmica dedicada, paciência e conhecimento compartilhado.

À minha coorientadora, Luciana, obrigada por ter ido além do papel de coorientadora, tornando-se mentora inspiradora. Suas palavras de tranquilidade e confiança foram essenciais nos momentos desafiadores.

Aos meus colegas do IPA, que compartilharam experiências e conhecimentos, agradeço pela colaboração, tornando o ambiente de pesquisa mais estimulante e divertido.

Por fim, expresso minha gratidão à CAPES pelo auxílio financeiro concedido.

Cada um de vocês desempenhou um papel crucial na realização deste trabalho, e por isso, meu mais sincero agradecimento.

RESUMO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) desempenha um papel fundamental na alimentação humana, sendo fonte crucial de proteínas e nutrientes para milhões de famílias de baixa renda em várias partes do mundo. Apesar de sua relevância, o cultivo do feijão enfrenta sérios desafios devido a diversas doenças causadas por fungos fitopatogênicos, como *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium* spp. Esses fitopatógenos levam a perdas significativas na produtividade e na qualidade dos grãos, afetando diretamente a segurança alimentar e econômica de muitas comunidades. A crescente utilização e desvantagens do uso de produtos químicos levam à necessidade de estratégias sustentáveis para o controle destes fitopatógenos. O gênero *Trichoderma* recebe destaque por sua capacidade de produzir metabólitos secundários com propriedades antagônicas contra diversos fitopatógenos. O estudo teve como objetivo avaliar o potencial antagônico dos metabólitos voláteis e não voláteis produzidos por isolados de *Trichoderma asperelloides* (5 isolados), *Trichoderma asperellum* (5 isolados) e *Trichoderma afroharzianum* (5 isolados) por meio da inibição de crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium triseptatum*, *Fusarium fabacearum* e *Fusarium annulatum*. Foram realizados testes para a produção de metabólitos voláteis utilizando a metodologia de sobreposição de placa e de metabólitos não voláteis por meio da incoporporacão do filtrado dos isolados de *Trichoderma* em meio BDA a 25% e, posteriormente, o patógeno foi inoculado no centro da placa de Petri. Os metabólitos voláteis e não voláteis produzidos pelos diferentes isolados de *Trichoderma* apresentaram eficácia no controle dos fitopatógenos estudados. Dentre os isolados testados, destacaram-se *T. asperelloides* (T2.41 e T2.48) contra *M. phaseolina* ST e BSF, *T. asperellum* (T9.19) e *T. afroharzianum* (T14.5) contra *F. annulatum*, pois demonstraram uma capacidade de inibição acima de 35% no crescimento das colônias deste fitopatógenos. Para *M.* phaseolina, tanto os compostos voláteis quanto os não voláteis foram eficientes. Os compostos voláteis apresentaram uma vantagem na inibição dos isolados de *Fusarium* em comparação com os metabolitos não voláteis. Os metabólitos de *T. asperelloides*, *T. asperellum* e *T. afroharzianum* poderão ser explorados no controle de doenças em feijão comum, contribuindo

para estratégias mais sustentáveis de manejo fitossanitário.

Palavras-chave: Biocontrole; *Fusarium* spp.; *Macrophomina* phaseolina; Metabólitos secundários; *Phaseolus vulgaris*.

ABSTRACT

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plays a fundamental role in human nutrition, being a crucial source of protein and nutrients for millions of low-income families in many parts of the world. Despite its relevance, bean cultivation faces serious challenges due to various diseases caused by phytopathogenic fungi, such as *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium* spp. These phytopathogens lead to significant losses in productivity and grain quality, directly affecting the food and economic security of many communities. The increasing use and disadvantages of the use of chemical products lead to the need for sustainable strategies for the control of these phytopathogens. The genus *Trichoderma* stands out for its ability to produce secondary metabolites with antagonistic properties against various phytopathogens. The study aimed to evaluate the antagonistic potential of volatile and non-volatile metabolites produced by isolates of *Trichoderma asperelloides* (5 isolates), *Trichoderma asperellum* (5 isolates), and *Trichoderma afroharzianum* (5 isolates) by means of the inhibition of mycelial growth of *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium triseptatum*, *Fusarium fabacearum*, and *Fusarium annulatum*. Tests were carried out with the production of volatile metabolites using the double plate methodology and non-volatile metabolites by incorporating the filtered *Trichoderma* isolates in 25% BDA medium and, subsequently, the pathogen was placed in the center of the Petri dish. Volatile and non-volatile metabolites produced by different isolates of *Trichoderma* showed efficacy in the control of the phytopathogens studied. Among the isolates tested, *T. asperelloides* (T2.41 and T2.48) against *M. phaseolina* ST and BSF, *T. asperellum* (T9.19) and *T. afroharzianum* (T14.5) against *F. annulatum* stood out, as they demonstrated an inhibition capacity above 35% in the growth of the colonies of this phytopathogens. For *M. phaseolina*, both volatile and non-volatile compounds were efficient. Volatile compounds showed an advantage in the inhibition of *Fusarium* spp. isolates compared to non-volatile metabolites. The metabolites of *T. asperelloides*, *T. asperellum*, and *T. afroharzianum* could be explored in disease management strategies in common bean, contributing to more sustainable phytosanitary management strategies.

Keywords: Biocontrol; *Fusarium* spp.; *Macrophomina phaseolina*; *Phaseolus vulgaris*; Secondary metabolites.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Planta de feijão apresentando sintomas de podridão cinzenta do caule causada por *Macrophomina phaseolina* no campo 22

Figura 2: Sintomas de murcha de *Fusarium* nas raízes do feijoeiro 25

Figura 3: Inibição de *M. phaseolina* após tratamento com metabólitos voláteis de *Trichoderma* 36

Figura 4: Inibição de *Fusarium* spp. após tratamento com metabólitos voláteis de *Trichoderma* 39

Figura 5: Inibição de *M. phaseolina* após tratamento com metabólitos não voláteis de *Trichoderma* 41

Figura 6: Inibição de *Fusarium annulatum* após tratamento com metabólitos não voláteis de *Trichoderma* 41

Figura 7: Mudança de coloração do micélio de isolado de *Fusarium triseptatum* F31 após tratamento com metabólitos não voláteis de *Trichoderma afroharzianum* 45

Figura 8: Mudança de coloração do micélio de isolado *Fusarium annulatum* F32 após tratamento com metabólitos não voláteis de *Trichoderma asperelloides* 45

Figura 9: Mudança de coloração do micélio de isolado *Fusarium fabacearum* F37 após tratamento com metabólitos não voláteis de *T. asperellum* 46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Isolados fúngicos das espécies de *Trichoderma* utilizadas para os testes contra fitopatógenos 33

Tabela 2: Isolados fúngicos das espécies de fitopatógenos utilizados visando o controle por *Trichoderma* spp. 34

Tabela 3: Média de crescimento da colônia (cm) e inibição do crescimento micelial (%) de isolados de *Macrophomina phaseolina* após tratamento com metabólitos voláteis produzidos por espécies de *Trichoderma* 37

Tabela 4: Média de crescimento micelial (cm) e inibição do crescimento micelial (%) de *Fusarium* spp. após tratamento com metabólitos voláteis produzidos por espécies de *Trichoderma* 38

Tabela 5: Média de crescimento da colônia (cm) e inibição do crescimento micelial (%) de *Macrophomina phaseolina* após tratamento com metabólitos não voláteis produzidos por espécies de *Trichoderma* 40

Tabela 6: Média de crescimento da colônia (cm) e inibição do crescimento micelial (%) de *Fusarium* spp. após tratamento com metabólitos não voláteis produzidos por espécies de *Trichoderma* 42

Tabela 7: Média de crescimento da colônia (cm) e de inibição do crescimento micelial (%) de *Macrophomina phaseolina* por compostos voláteis e não voláteis de *Trichoderma* 43

Tabela 8: Média de crescimento da colônia (cm) e de inibição do crescimento micelial (%) de *Fusarium* spp. por compostos voláteis e não voláteis de *Trichoderma* 44

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	**14**
2	**OBJETIVOS**	16
2.1	GERAL	*16*
2.2	ESPECÍFICOS	*16*
3	**REFERENCIAL TEÓRICO**	**17**
3.1	FEIJÃO COMUM	17
3.2	PATÓGENOS QUE AFETAM O FEIJÃO COMUM	19
3.3	*Macrophomina phaseolina*	20
3.4	*Fusarium oxysporum*	23
3.5	MÉTODOS DE CONTROLE	26
3.6	CONTROLE BIOLÓGICO DE PATÓGENOS	27
3.7	*Trichoderma* spp. COMO BIOCONTROLADOR	28
4	**MATERIAL E MÉTODOS**	**32**
4.1	OBTENÇÃO DOS FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E BIOCONTROLADORES	32
4.2	TESTE DE EFEITO INIBITÓRIO DE METABÓLITOS VOLÁTEIS E NÃO VOLÁTEIS DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp.	34
4.3	ANÁLISE DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL	35
5	**RESULTADOS**	**36**
5.1	INIBIÇÃO DE *M. phaseolina* E *Fusarium spp.* COM TRATAMENTO DE METABÓLITOS DE *Trichoderma* spp.	36
6	**DISCUSSÃO**	**47**
7	**CONSIDERAÇÕES FINAIS**	**52**
	REFERÊNCIAS	**53**

1 INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa consumida mundialmente de variadas formas. Por ser uma importante fonte de proteína, carboidrato, fibras, vitaminas e minerais (BONETT et al., 2007), o feijão desempenha um papel crucial como a principal fonte de proteínas para quase quinhentos milhões de famílias de baixa renda em países da África, América Latina e Caribe (GABREKIRISTOS; WONDIMU, 2022).

No Brasil, o feijão é consumido em todas as regiões do país, sendo cultivado em diferentes escalas e utilizando diferentes níveis tecnológicos. O feijoeiro pode abrigar uma grande variedade de patógenos que causam doenças (MORAES; MENELAU, 2017; SILVA; WANDER, 2013) e que levam a perdas significativas na produtividade, afetando a qualidade comercial dos grãos (ETANA, 2022; PRIA; SILVA, 2018).

Os gêneros *Fusarium* e *Macrophomina* são relatados como dois dos principais patógenos radiculares do feijoeiro comum (CASA et al., 2011) e apresentam difícil controle, pois a sobrevivência desses patógenos no solo e nos resíduos das plantas é alcançada pela produção de esporos, estruturas de resistência (clamidósporos e escleródios), além da ocorrência de novas linhagens resistentes a fungicidas sintéticos devido à flexibilidade genética e ciclos de vida de amplo espectro (AL-ANI, 2019; KHAN et al., 2020; MAINA et al., 2017).

Os principais mecanismos pelos quais os patógenos e doenças podem se espalhar para novas áreas ou plantações é pelo plantio de sementes infectadas, por meio de tecidos e solo do hospedeiro contaminados movidos pela água ou vento (NASERI; MOUSAVI, 2015). Além disso, o uso constante de produtos químicos leva ao desenvolvimento de patógenos resistentes, problemas ambientais, solo sem diversidade biológica, contaminação dos próprios alimentos e de produtos agrícolas, carcinogenicidade em humanos, além de ser economicamente inviável, devido a estes fatores, a demanda por métodos biológicos para o controle de patógenos em lavouras tem

aumentado constantemente (ALY et al., 2007; NAVA-PÉREZ et al., 2012; SANTOS, 2010).

Dentre os agentes utilizados para o controle biológico, o gênero *Trichoderma* tem recebido grande destaque, pois são capazes de sobreviver a diferentes ambientes agroclimáticos, sob estresses bióticos e abióticos, além de apresentarem alta capacidade reprodutiva e serem naturalmente resistentes a muitos compostos tóxicos, incluindo herbicidas, fungicidas e inseticidas (AL-ANI, 2019; BENÍTEZ et al., 2004; BROTMAN; KAPUGANTI; VITERBO, 2010). *Trichoderma* é representado por fungos de rápido crescimento e encontrados em solos florestais ou agrícolas de diversas zonas climáticas, podendo ser facilmente cultivados *in vitro*. O gênero inclui espécies produtoras de diferentes substâncias, conhecidas como metabólitos secundários, como antibióticos, enzimas, além de compostos como terpenos, fenóis, alcalóides e ácidos, que são eficazes no controle biológico de fitopatógenos e na promoção do crescimento das plantas, incluindo o feijoeiro (HOYOS-CARVAJAL; ORDUZ; BISSETT, 2009; PEDRO et al., 2012). É possível produzir esses metabólitos em larga escala e com baixo custo em um contexto industrial. Além disso, eles podem ser facilmente separados da biomassa fúngica, submetidos ao processo de secagem e formulados para serem utilizados em pulverizações ou aplicações líquidas, visando o controle de fitopatógenos (VINALE et al., 2008). A cultura do feijão comum tem sido diretamente beneficiada com a disponibilização de produtos à base de *Trichoderma* sp., para controle de fitopatógenos (JUNIOR; MACHADO-ROSA; GERALDINE, 2019; VANEGAS; PAVAS; OSORNO, 2019).

Diante da dificuldade e dos problemas advindos do uso de agentes químicos para o controle de *Macrophomina phaseolina* e de espécies do complexo *Fusarium oxysporum* fazem-se necessários estudos com métodos biológicos que possam constituir uma alternativa para o controle das doenças causadas por estes fitopatógenos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Selecionar espécies de *Trichoderma* produtoras de metabólitos com potencial antagônico contra *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium spp.*

2.2 ESPECÍFICOS

- Determinar a ação antagônica de metabólitos voláteis de *Trichoderma asperelloides*, *T. asperellum* e *T. afroharzianum* contra *M. phaseolina*, *Fusarium triseptatum, Fusarium fabacearum* e *Fusarium annulatum*;
- Determinar a ação antagônica de metabólitos não voláteis de *Trichoderma asperelloides*, *T. asperellum* e *T. afroharzianum* contra *M. Faseolina*, *Fusarium triseptatum, Fusarium fabacearum* e *Fusarium annulatum*

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 FEIJÃO COMUM

O feijão comum, cientificamente conhecido como *Phaseolus vulgaris* L., pertence à classe Dicotiledoneae, família Leguminosae, subfamília Papilionoidae e gênero *Phaseolus*. O feijoeiro comum é responsável por aproximadamente 95% da produção mundial de feijões e é cultivado em cerca de 100 países ao redor do mundo (BONETT et al., 2007). É considerada uma das mais antigas culturas, com evidências arqueológicas encontradas no México e na América do Sul indicando seu conhecimento por volta de 5.000 anos antes de Cristo, sendo o México o provável centro de origem ou de diversificação do feijão (ULLOA et al., 2011).

Dentro da diversidade do feijão, podem ser encontradas variedades classificadas em diferentes grupos de cores, incluindo branco, amarelo, marrom, vermelho, preto, entre outros. Essa diversidade no feijão reflete a preferência do consumidor, que pode variar de acordo com o país e região. No Brasil, os tipos de grão carioca e preto são os mais consumidos, representando cerca de 70% e 15% da produção nacional, respectivamente. É importante ressaltar que outros tipos de grãos, como o feijão-branco, o feijão-vermelho e o feijão-mulatinho, também são cultivados e consumidos no país, demonstrando a riqueza culinária e cultural associada ao feijão na dieta brasileira (PEREIRA et al., 2019; SIVIERO et al., 2016; ULLOA et al., 2011).

O feijão desempenha um papel fundamental na alimentação humana e animal devido às suas características organolépticas e valor nutricional. É uma excelente fonte de proteínas, minerais e vitaminas essenciais, além de possuir um alto teor de ácidos graxos poli-insaturados e carboidratos, tornando-o uma opção saudável e energética (MORAES; MENELAU, 2017). A quantidade de proteína no feijão pode variar entre 14% e 33%, e embora possa ter deficiências nos aminoácidos sulfurados, como metionina e cisteína, a qualidade da proteína do feijão cozido pode chegar a 70% em relação a proteínas de

origem animal (ULLOA et al., 2011). No entanto, a presença de antinutrientes, como fitato, polifenóis, lectinas, oligossacarídeos da família das rafinoses, saponinas, peptídeos bioativos e inibidores de enzimas, pode limitar o valor nutricional do feijão comum. Esses antinutrientes podem interferir na biodisponibilidade de cátions minerais, absorção de nutrientes, causar desconforto gastrointestinal e afetar a digestibilidade e a biodisponibilidade de proteínas (COMINELLI et al., 2022). No entanto, a adoção de técnicas de preparo adequadas, como a imersão e o cozimento adequado das sementes de feijão, pode reduzir ou eliminar esses antinutrientes o que melhora a digestibilidade e a biodisponibilidade dos nutrientes, tornando o feijão uma fonte nutritiva e segura de alimento (MUBARAK, 2005).

Em 2021, o Brasil foi o segundo maior produtor de feijão do mundo, com cerca 2.899.864 toneladas produzidas (FAOSTAT, 2023), e em 2023 a estimativa de produção é de 3.079,4 mil toneladas, aumento de aproximadamente 6,20% (CONAB, 2023).

No Brasil, existem diversas políticas governamentais e programas de incentivo voltados para o feijão comum, como o Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar (Pronaf) e o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE). Essas linhas de crédito visam financiar investimentos na produção, compra de insumos e implementação de tecnologias. O Pronaf oferece linhas de crédito específicas para os agricultores familiares, incluindo aqueles envolvidos na produção de feijão comum e o PNAE estabelece a obrigatoriedade de destinar parte dos recursos para a compra de alimentos da agricultura familiar. Essa política fortalece os produtores locais e contribui para a oferta de uma alimentação saudável nas escolas (BRASIL, 2023; DUTRA; MARTINS; PARRÉ, 2021).

O feijoeiro comum é considerado uma cultura atípica devido à possibilidade de se obter três safras durante o ano. Essa viabilidade é alcançada pelo uso de irrigação em períodos de baixa precipitação e das condições favoráveis de altitude em certas regiões, especialmente na região dos cerrados. A produção de feijão comum abrange diversos tipos de produtores em várias regiões do país, com diferentes níveis

tecnológicos. No entanto, destaca-se a importância da agricultura familiar como grande responsável pela produção de feijão no Brasil (SILVA; WANDER, 2013).

A temperatura e a precipitação são fatores cruciais que impactam o desempenho do feijoeiro. A temperatura desempenha um papel direto no desenvolvimento da cultura, especialmente durante o florescimento e a frutificação. A faixa ideal de temperatura média para o cultivo na América Latina varia de 17,5 a 25ºC, com ênfase em temperaturas próximas a 21ºC durante a época de floração (MARIOT, 1989). Temperaturas muito baixas após a semeadura podem prejudicar a germinação e reduzir a população de plantas emergentes, afetando a produtividade final. Por outro lado, altas temperaturas podem ter um impacto negativo no desenvolvimento das estruturas florais e sementes, levando à queda dos órgãos reprodutivos. Temperaturas acima de 35ºC podem resultar na escassez de formação de vagens, comprometendo significativamente a produção (PEREIRA et al., 2014). Além da temperatura, as características físico-químicas do solo também desempenham um papel crucial no desenvolvimento do feijoeiro e devem ser consideradas no planejamento do cultivo (KARAVIDAS et al., 2022).

Dentre os desafios enfrentados pelos produtores de feijão comum, a presença de contaminantes biológicos no feijão é um dos mais preocupantes, pois além de causarem grandes perdas na produção, afetando diferentes etapas da cadeia produtiva, os contaminantes podem ter efeitos adversos na saúde dos consumidores, seja por efeitos tóxicos diretos ou por promover deficiências nutricionais (NASERI; MOUSAVI, 2015; SANTOS; FURLONG, 2021).

3.2 PATÓGENOS QUE AFETAM O FEIJÃO COMUM

Os patógenos de plantas causam sérios riscos à produção agrícola, resultando em enormes perdas econômicas todos os anos. As doenças que infectam o feijão comum podem ser causadas por bactérias, vírus, nematoides e fungos. O feijoeiro é suscetível a várias

doenças bacterianas, como o crestamento bacteriano comum, o crestamento halo e a ferrugem bacteriana, doenças que são causadas por diferentes espécies como *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola e *Xanthomonas axonopodis* pv. phaseoli (Xap) (AKHAVAN et al., 2013). Os vírus do gênero *Potyvirus*, como o vírus mosaico comum do feijão e o vírus da necrose do mosaico comum do feijão são exemplos de patógenos virais de grande importância que afetam a produção de feijão comum (DELİGÖZ et al., 2022). Dentre os nematoides, diversas espécies do gênero *Meloidogyne*, têm sido associados a danos significativos durante a produção de feijão, onde a contaminação pode ocorrer por meio de solo, água ou maquinário infectado (SANTOS; FURLONG, 2021).

As espécies fúngicas desempenham um papel significativo, sendo responsáveis por cerca de 70% das principais doenças que afetam diferentes culturas, incluindo o feijão (ELAGAMEY et al., 2022). Diversos fungos foram detectados no feijão comum infectando o grão armazenado, incluindo *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *A. niger* e *Penicillium digitatum* (SILVA et al., 2020). Também foram identificados outros fungos como *Alternaria* spp. e *Cladosporium* spp., *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia mutila*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium* spp., *Lasiodiplodia theobromae*, *Penicillium citrinum* e *Corynespora cassiicola* (DELL'OLMO et al., 2023; ELAGAMEY et al., 2022; MARCENARO; VALKONEN, 2016; RUSUKU et al., 1997). As espécies *Colletotrichum lindemuthianum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium* spp. são os principais patógenos que afetam o feijão comum (DELL'OLMO et al., 2023). Essa diversidade de fungos apresenta desafios significativos para a cultura do feijão, exigindo estratégias adequadas de manejo e controle para garantir a saúde das plantas e a produtividade das colheitas.

3.3 *Macrophomina phaseolina*

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid é um fungo pertencente ao Filo Ascomycota, Subfilo Pezizomycotina, Classe Dothideomycetes, Ordem Botryosphaeriales, Família Botryosphaeriaceae (MYCOBANK,

2023). A macromorfologia é caracterizada por um micélio que varia inicialmente de coloração esbranquiçada a marrom acinzentada e preta, conforme a idade da colônia e com a possibilidade de formação de micélio aéreo (GUPTA; SHARMA; RAMTEKE, 2012; PANDEY et al., 2020). No micélio, há a formação de microescleródios, estrutura de resistência do fungo que atuam como a fonte infecciosa primária de *M. phaseolina* e são capazes de sobreviver no solo por até 15 anos. Os microescleródios variam de forma podendo ser esféricos, ovais ou oblongos e com coloração de marrom a preto, e permitem que o fungo persista no ambiente e cause infecções em plantas hospedeiras em diferentes momentos ao longo do tempo (BEAS-FERNÁNDEZ et al., 2006; GUPTA; SHARMA; RAMTEKE, 2012; MARQUEZ et al., 2021).

Durante muito tempo, *Macrophomina phaseolina* foi considerada a única espécie do gênero *Macrophomina*, porém, estudos filogenéticos recentes trouxeram à tona a presença de quatro novas espécies dentro do gênero Macrophomina: *M. pseudophaseolina*, *M. euphorbiicola*, *M. vaccinni* e *M. tecta* (KOUADRI; BEKKAR; ZAIM, 2023). A identificação e detecção de *Macrophomina* são tarefas complexas devido à semelhança morfológica entre as espécies. Diversos métodos são empregados para distinguir as espécies do gênero. A identificação de *M. phaseolina* com base em características culturais e morfológicas mostrou-se insuficiente, enquanto técnicas bioquímicas e sorológicas apresentam limitações em sua capacidade de diferenciação (BABU; SAIKIA; ARORA, 2010; JANA et al., 2003). Por esse motivo, técnicas moleculares baseadas em PCR, como RAPD e RFLP têm sido empregadas para estudar a diversidade genética desse patógeno (KOUADRI; BEKKAR; ZAIM, 2023).

É um fungo proveniente do solo, possui uma ampla distribuição geográfica e representa um problema significativo principalmente em países tropicais e subtropicais. Apresenta uma ampla gama de hospedeiros, que vão de diferentes culturas como algodão, feijão, soja e morango, até árvores florestais e frutíferas, e plantas medicinais (KAUR et al., 2012; MAHDIZADEH; SAFAIE; GOLTAPEH, 2011). O fungo é responsável por causar a doença conhecida como podridão cinzenta do caule, caracterizada pela decomposição dos tecidos da planta, que

adquirem uma coloração enegrecida devido à presença de microescleródios negros (SARR et al., 2014). *M. phaseolina* é capaz de infectar em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura, sendo transmitida também por sementes infectadas, e após a penetração nas raízes, o fungo passa a afetar o sistema vascular da planta comprometendo o fluxo de água e nutrientes para a parte superior da mesma (GUPTA; SHARMA; RAMTEKE, 2012).

A podridão cinzenta do caule pode manifestar uma variedade de sintomas. Os sinais mais distintos da infecção incluem a formação de lesões fusiformes com borda escura e centro cinza claro, coberto por pequenos microescleródios, descoloração marrom avermelhada na linha do solo das plantas afetadas, que pode se estender pelo caule, podendo tornar-se marrom escuro a preto, amarelecimento e senescência das folhas, e descamação dos tecidos corticais (Figura 1). Além disso, pode ocorrer a inibição da germinação e murcha das mudas por meio da produção de uma exotoxina pelo patógeno, a faseolinona (ALMOMANI; ALHAWATEMA; HAMEED, 2013; CHAMORRO et al., 2015; MARQUEZ et al., 2021). Fatores como altas temperaturas, estresse hídrico, a presença de densidades elevadas de plantas, compactação do solo e a aplicação inadequada de pesticidas favorecem o agravamento da doença (LODHA; MAWAR, 2020; MAYEK-PÉREZ et al., 2002).

Figura 1 - Planta de feijão apresentando sintomas de podridão cinzenta do caule causada por *Macrophomina phaseolina* no campo

Fonte: Schwartz (2008)

Em condições favoráveis, a infecção pelo fungo pode causar danos significativos nas plantas de feijão, como declarado por Zanella et al. (2021), em que a severidade da podridão das raízes foi superior a 75% em teste na casa de vegetação, apresentando redução no número de legumes e de grãos por planta.

3.4 *Fusarium* spp.

A identificação precisa das espécies de *Fusarium* representa um desafio devido à notável variabilidade morfológica e à falta de características distintivas evidentes entre espécies intimamente relacionadas. Abordagens taxonômicas que dependem unicamente de características morfológicas muitas vezes subestimam a verdadeira diversidade presente nas espécies de *Fusarium*, por isso a aplicação de técnicas moleculares tornou-se essencial para superar essas limitações (SANTOS et al., 2023). As principais regiões gênicas estudadas para a identificação de *Fusarium* são *tef1* (Fator de Elongação 1-alfa) e rpb2 (segunda maior subunidade da RNA-polimerase II). A região *tef1* é amplamente preferida pelos pesquisadores para estudos centrados em um único locus devido à sua alta resolução no nível do gênero, enquanto a região *rpb2* possibilita a diferenciação entre espécies intimamente relacionadas e é mais facilmente alinhável (CROUS et al., 2021b). Dada a atual complexidade na definição de critérios de espécies, especialistas foram motivados a revisar a classificação filogenética do gênero *Fusarium*. Essa revisão resultou na introdução do termo "complexo de espécies" em diferentes estudos, em que um complexo de espécies agrupa diversas espécies com características morfológicas, ecológicas, metabólicas e variedades de hospedeiros semelhantes (NIKITIN et al., 2023). Esses avanços moleculares são fundamentais para uma compreensão precisa da variabilidade genética e da evolução das espécies de *Fusarium*, fornecendo uma base sólida para futuras pesquisas em fitopatologia e estratégias de controle.

Fusarium oxysporum (FOSC) e *Fusarium fujikuroi* (FFSC) são complexos de espécies encontrados no solo, sendo responsáveis por causar doenças vasculares em várias plantas, como a murcha de Fusarium, uma das doenças mais importantes do feijoeiro (BATISTA et al., 2022; CARMONA et al., 2020; YILMAZ et al., 2021). O FOSC inclui numerosos táxons patogênicos para plantas, sendo vários deles específicos para determinados hospedeiros (CROUS et al., 2021a), porém, espécies como *F. triseptatum* e *F. fabacearum* podem ser encontradas infectando diferentes hospedeiros (AFOLABI et al., 2023; DOBBS et al., 2023; ZHANG et al., 2021). *Fusarium annulatum*, uma espécie pertencente ao FFSC, é amplamente distribuída em zonas tropicais e temperadas, sendo morfológica e filogeneticamente diversa, afetando mais de 200 espécies de plantas. Reconhecida como um patógeno amplamente conhecido em várias culturas ao redor do mundo, essa espécie também está associada a infecções em seres humanos, especialmente em indivíduos imunocomprometidos (YILMAZ et al., 2021). A morfologia da colônia de *Fusarium* pode apresentar variação em textura e cor, podendo ser algodonosa ou fibrosa e com coloração que varia principalmente entre branco, rosa e roxo (MAINA et al., 2017).

A infecção inicial da doença é causada por clamidósporos, estruturas de resistência do fungo, podendo ser introduzido por sementes infectadas e implementos agrícolas contaminados. Essas estruturas de resistência permitem que o fungo persista no solo mesmo quando não há hospedeiros disponíveis. Quando as condições ambientais são favoráveis, os esporos e clamidósporos germinam e produzem hifas que penetram nas raízes das plantas de feijão, processo que é facilitado por lesões e aberturas naturais na planta.

O fungo coloniza os vasos condutores do xilema, que são responsáveis pelo transporte de água e nutrientes na planta. Com o tempo, a infecção causa a obstrução dos vasos do xilema, levando à murcha da planta (BATISTA et al., 2016; DEMARTELAERE et al., 2021; MICHEREFF et al., 2005). Os sintomas da murcha de Fusarium no

feijão podem incluir amarelamento das folhas, nanismo, descoloração e necrose dos vasos, geralmente, a infecção ocorre de forma unilateral, pois afeta os feixes vasculares originados do tecido radicular infectado. Conforme a infecção se agrava, a planta apresenta murcha permanente, inclinação ou tombamento e, eventualmente, morte da planta (Figura 2). A presença de lesões necróticas nas raízes também pode ser observada, além disso, quando as condições de umidade estão elevadas, as plantas exibem externamente o micélio e as frutificações do patógeno (DE VEGA-BARTOL et al., 2011; SARTORATO; RAVA, 1994). Condições como solos de textura arenosa, pH baixo, baixos níveis de matéria orgânica e temperatura entre 21 e 33 °C favorecem o aparecimento e desenvolvimento da doença (TÖFOLI; DOMINGUES, 2018).

Figura 2 - Sintomas de murcha de *Fusarium* nas raízes do feijoeiro.

Fonte: Schwartz (2008)

Fungos do gênero *Fusarium* são importantes produtores de micotoxinas como diacetoxiscirpenol, desoxinivalenol e fumonisina B1, compostos que são altamente tóxicos para humanos e animais. No Brasil, *F. oxysporum* é comum em todo o país, levando a uma significativa redução na produtividade. Esse problema ocorre principalmente devido à utilização contínua de cultivares suscetíveis,

gerando desafios para produção de cultivares de feijão (BATISTA et al., 2016; GALHARDO et al., 1997; NASERI; MOUSAVI, 2015; STOCKMANN-JUVALA; SAVOLAINEN, 2008).

3.5 MÉTODOS DE CONTROLE

Macrophomina phaseolina e espécies de *Fusarium* são importantes patógenos que causam doenças na cultura do feijoeiro, causando sérios prejuízos econômicos aos agricultores. Ambos os fungos possuem dificuldade de controle principalmente devido a suas formas de resistência, que são capazes de sobreviver no solo durante anos (FALL et al., 2001; GHOSH et al., 2018). Métodos de controle como a rotação de culturas, plantio de variedades resistentes são utilizados e podem auxiliar na melhora da estrutura do solo e na disponibilidade de nutrientes. Outros métodos alternativos eficientes, são a utilização de nanofungicidas baseados em nanoemulsão de prata, o uso de óleos essenciais e a solarização do solo, que consiste na cobertura do solo com filmes plásticos transparentes e exposição direta ao sol por algumas semanas, elevando a temperatura do solo (BATISTA et al., 2022; CHAMORRO et al., 2015; KHALEDI; TAHERI; TARIGHI, 2015; PATEL et al., 2014; SINGH; NENE; REDDY, 1990).

Por muito tempo, o método mais comum para combater doenças agrícolas foi o uso de agrotóxicos. No entanto, o uso prolongado desses produtos químicos tem acarretado várias consequências, incluindo a contaminação do solo e da água devido aos resíduos deixados nos restos de colheitas, afetando assim toda a cadeia alimentar, além disso, o controle químico é dificultado pois não há fungicidas sistêmicos que se movam em direção à raiz. Contudo, atualmente, é possível encontrar no mercado produtos que sejam eficazes no controle químico, como carbendazim, difenoconazol, benomyl e tiofanatometil para o controle de *M. phaseolina* e Vitavax, Rovral, Cupravit e Aimcozim para controle de *F. oxysporum* (GUPTA; SHARMA; RAMTEKE, 2012; IQBAL; MUKHTAR, 2020; MOCHIAH et al., 2019; SIDDIQUE et al., 2014). Além

das estratégias de controle previamente mencionadas, o controle biológico é outra abordagem que tem se destacado cada vez mais devido às suas vantagens distintas (NASERI; MOUSAVI, 2015; SANTOS; FURLONG, 2021).

3.6 CONTROLE BIOLÓGICO DE PATÓGENOS

O controle biológico de fungos é uma estratégia de manejo de doenças que utiliza agentes biológicos para reduzir ou suprimir a população de fungos patogênicos que causam danos às plantas, animais ou seres humanos. Essa abordagem busca aproveitar a interação natural entre organismos vivos para controlar o crescimento e a disseminação dos fungos patogênicos, com o objetivo de minimizar o uso de produtos químicos e promover a sustentabilidade dos sistemas agrícolas e ambientais (SAVITA; SHARMA, 2019). A utilização do controle biológico como alternativa ao controle químico oferece algumas vantagens como menor custo, facilidade de aplicação, impacto ambiental reduzido e a capacidade de transformar ou recuperar solos contaminados (BUTT; COPPING, 2000; RUFINO; ARAÚJO; NOGUEIRA, 2018).

Os agentes de controle biológico possuem diferentes formas de impactar os patógenos. Alguns agem diretamente inibindo o crescimento dos patógenos por meio de mecanismos antagônicos, como antibiose, parasitismo, competição e predação, outros afetam os patógenos de maneira indireta, estimulando as vias de defesa na planta hospedeira ou por meio da produção de metabólitos secundários (MARQUEZ et al., 2021; PALMIERI et al., 2022). O controle biológico de fungos é uma estratégia amplamente aplicada em diversos sistemas agrícolas e sua eficácia pode ser influenciada por fatores como as condições ambientais, o tipo de patógeno alvo e a interação entre o organismo benéfico e o fungo fitopatogênico (BETTIOL; GHINI, 2009).

Existem produtos biológicos para o controle de fitopatógenos e que podem ser aplicados por diferentes métodos, como pulverização foliar, tratamento de sementes, aplicação no solo e introdução nos

sistemas de irrigação (MORANDI et al., 2009). Uma variedade de microrganismos possui a capacidade de ser utilizado como agente de controle biológico, entre eles, destacam-se as espécies do gênero *Trichoderma*, que além de suas propriedades benéficas no controle de doenças, também demonstram habilidade de competição na rizosfera, proporcionando benefícios adicionais para a saúde e desenvolvimento das culturas (MACHADO et al., 2012).

A utilização de controle biológico tem se mostrado uma alternativa promissora e sustentável para o manejo de doenças nas plantações, reduzindo a dependência de pesticidas químicos e contribuindo para a preservação do meio ambiente e da saúde pública. O controle biológico de fungos é uma ferramenta importante para a sustentabilidade da agricultura, contribuindo para a redução do uso de agroquímicos e a preservação do meio ambiente e da saúde pública (NASERI; MOUSAVI, 2015; SANTOS; FURLONG, 2021).

3.7 *Trichoderma* spp. COMO BIOCONTROLADOR

Trichoderma é um gênero de fungos filamentosos pertencentes ao filo Ascomycota, amplamente distribuídos no solo e em ambientes naturais. Reconhecido como um dos principais agentes de controle biológico de fungos fitopatogênicos em culturas agrícolas, as espécies de *Trichoderma* possuem propriedades antagônicas e habilidade de produzir metabólitos bioativos (SCHUSTER; SCHMOLL, 2010). Composto por mais de 500 espécies válidas (SOUSA et al., 2023), a identificação taxonômica específica do gênero *Trichoderma* pode ser complexa. No entanto, a filogenia molecular é uma ferramenta eficaz para identificar corretamente as espécies. A análise molecular de DNA desempenha um papel fundamental na revisão e classificação desse grupo de fungos, tornando possível diferenciar e classificar as diversas espécies de *Trichoderma*, o que auxilia na compreensão da diversidade e na aplicação de diferentes linhagens para fins agrícolas e de controle biológico de doenças em plantas (ABREU; PFENNING, 2019; OLIVEIRA et al., 2023).

Trichoderma sp. possui características morfológicas distintas, como hifas septadas, conídios ovais ou piriformes produzidos em estruturas especializadas denominadas de conidiófoross. Esses fungos são amplamente conhecidos por sua capacidade de crescer em uma variedade de substratos, com temperatura ótima de crescimento variando entre 25 °C e 30 °C para a maioria das espécies, além de colonizar as raízes de plantas, onde estabelecem uma relação mutualística benéfica (HARMAN et al., 2012; ZIN; BADALUDDIN, 2020). *Trichoderma* tem sido amplamente estudado e utilizado como agente de controle biológico de fungos fitopatogênicos. Essa capacidade se deve a várias estratégias antagônicas empregadas como parasitismo, competição e indução de resistência.

Além das estratégias mencionadas, estudos têm demonstrado que o gênero também é capaz de produzir metabólitos voláteis com atividades antifúngicas. Essas substâncias voláteis são liberadas para o ambiente e podem inibir o crescimento de fungos patogênicos (GHAZANFAR et al., 2018; MACHADO et al., 2012).

Os metabólitos produzidos pelo *Trichoderma*, como policetídeos, pironas e terpenos, têm a capacidade de interferir com a sinalização química e a comunicação celular dos fungos fitopatogênicos, afetando seu crescimento e desenvolvimento. Além disso, alguns desses compostos são capazes de aumentar o crescimento da planta ao liberar compostos semelhantes a hormônios que estimulam o crescimento da raiz e o desenvolvimento da planta (AL-ANI, 2019; RAMADA; LOPES; ULHOA, 2019). A aplicação de *Trichoderma* sp. e seus metabólitos tem sido investigada como uma estratégia eficiente e sustentável de controle biológico de doenças de plantas. Em alguns casos, *Trichoderma* é formulado como biopesticidas, biofertilizantes, estimuladores de crescimento e estimulantes de resistência natural (WOO et al., 2014).

No mercado, os produtos contendo *Trichoderma* estão disponíveis em diferentes tipos de formulações, tais como pó molhável, líquido e grânulos dispersíveis em água. Essas formulações oferecem opções versáteis para o uso desse agente de controle biológico em diferentes culturas e sistemas agrícolas (POMELLA; RIBEIRO, 2009).

Oliveira (2022) testou contra *M. phaseolina* os seguintes produtos comerciais à base de *Trichoderma*: Ecotrich®, Pardella® e Quality®, e todos os produtos demonstraram eficácia no controle biológico do fitopatógeno nas condições avaliadas.

Diversos estudos científicos confirmam a eficácia dos metabólitos secundários produzidos por *Trichoderma* no controle biológico de diferentes fitopatógenos. Ding et al. (2020) demonstraram que o *Trichoderma afroharzianum* produz compostos antifúngicos eficazes contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *nicotianae.* Em experimentos de confronto de placas duplas, *Trichoderma asperellum* mostrou taxa de inibição do crescimento radial de 55% contra *M. phaseolina* em morangos, conforme relatado por Pastrana et al. (2016). *Trichoderma virens* foi identificado como produtor da gliotoxina, um composto com efeito inibitório comprovado contra uma variedade de patógenos, incluindo *Macrophomina phaseolina*, *Pythium debaryanum*, *Sclerotium rolfsii* e *Rhizoctonia solani* (SHARMA et al., 2023; SINGH et al., 2005). O tratamento de folhas da soja com metabólitos secundários, como a 6-pentil-α-pirona, o ácido harziânico e a harzianolide, resultaram em reduções significativas na gravidade da ferrugem asiática da soja causada por *Phakopsora pachyrhizi*, com reduções de 84,2%, 65,8% e 50,4%, respectivamente, como observado no estudo de El-Hasan et al. (2022).

Além dos fitopatógenos, os metabólitos secundários de *Trichoderma* apresentam eficácia no controle de pragas. Os metabólitos secundários produzidos por *Trichoderma citrinoviride* mostraram influenciar a preferência alimentar do pulgão *Schizaphis graminum*, impedindo que os pulgões se fixassem nas folhas tratadas (EVIDENTE et al., 2009). *T. harzianum,* produtor de metabólitos, apresentou taxa de mortalidade de 76% contra o besouro da farinha vermelha (RAHIM; IQBAL, 2019).

O uso de *Trichoderma* como agente de controle biológico representa uma importante contribuição para a promoção da sustentabilidade na agricultura. Essa estratégia oferece uma alternativa eficiente, seletiva e amigável ao meio ambiente para o manejo de

doenças de plantas, garantindo a produção de alimentos saudáveis e preservando o meio ambiente para as gerações futuras.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DOS FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E BIOCONTROLADORES

Todas as amostras de fungos utilizadas no experimento foram provenientes do Banco de Germoplasma de Microrganismos do Instituto Agronômico de Pernambuco, onde o trabalho foi conduzido. Foram utilizados cinco isolados de *Trichoderma asperelloides*, cinco de *Trichoderma asperellum* e três de *Trichoderma afroharzianum* (Tabela 1), identificados conforme Oliveira et al. (2023). Estes isolados foram testados contra dois isolados do complexo de espécies *F. oxysporum* (*Fusarium triseptatum* e *Fusarium fabacearum),* um isolado do complexo de espécies *F. fujikuroi* (*Fusarium annulatum*) e três isolados de *M. phaseolina* (Tabela 2), provenientes de regiões produtoras de feijão do Estado de Pernambuco. A identificação dos isolados de *Fusarium* foi com base no sequenciamento da região *tef1* (Fator de elongação 1-alpha) (DA SILVA SANTOS et al., 2023). O isolado F37 foi constatado como pertencente ao clado de *Fusarium fabacearum*, *Fusarium inflexum* e *Fusarium callistephi*, revelando a indistinção entre eles. Por conseguinte, neste estudo, o isolado F37 foi designado como *F. fabacearum*. Para a identificação dos isolados de *Macrophomina* foram amplificadas a região *tef1* e as regiões 1 e 2 do gene *ITS* (Internal Transcribed Spacers) (MACHADO et al., 2019).

Os isolados de *M. phaseolina* e de *Fusarium* spp. estão em processo de depósito na Coleção de Culturas URM.

Tabela 1. Isolados fúngicos das espécies de *Trichoderma* utilizadas para os testes contra fitopatógenos

Isolado	**Espécie de *Trichoderma***	**Número Genbank**
T2.5	*Trichoderma asperelloides*	OL825048
T2.6	*Trichoderma asperellum*	OL825030
T2.12	*Trichoderma asperellum*	OL825041
T2.27	*Trichoderma asperellum*	OL825035
T2.31	*Trichoderma asperellum*	OL825039
T2.33	*Trichoderma asperelloides*	OL825055
T2.41	*Trichoderma asperelloides*	OL825054
T2.48	*Trichoderma asperelloides*	OL825050
T5.8	*Trichoderma afroharzianum*	OL825075
T9.19	*Trichoderma asperellum*	OL825037
T12.5	*Trichoderma afroharzianum*	OL825074
T12.8	*Trichoderma asperelloides*	OP554974
T14.5	*Trichoderma afroharzianum*	OL825076

Fonte: A autora (2023)

Tabela 2. Isolados fúngicos das espécies de fitopatógenos utilizados visando o controle por *Trichoderma* spp.

Identificação	Espécie do fitopatógeno	Complexo de espécies	Local de origem do isolado
ARA	*Macrophomina phaseolina*	Não se aplica	Araripina -PE
BSF	*Macrophomina phaseolina*	Não se aplica	Belém de São Francisco - PE
ST	*Macrophomina phaseolina*	Não se aplica	Serra Talhada - PE
F31	*Fusarium triseptatum*	*Fusarium oxysporum* (FOSC)	Município de São João – PE
F32	*Fusarium annulatum*	*Fusarium fujikuroi* (FFSC)	Município de São João – PE
F37	*Fusarium fabacearum* *Fusarium inflexum* *Fusarium callistephi*	*Fusarium oxysporum* (FOSC)	Município de São João – PE

Fonte: A autora (2023)

4.2 TESTE DE EFEITO INIBITÓRIO DE METABÓLITOS VOLÁTEIS E NÃO VOLÁTEIS DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp.

Para o bioensaio de metabólitos voláteis, discos de micélio de 5mm de diâmetro do patógeno e dos isolados de *Trichoderma* foram inoculados, individualmente no centro da base de placas de Petri contendo meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA). As bases das placas contendo patógeno e *Trichoderma* foram sobrepostas e unidas, utilizando filme plástico, de acordo com a metodologia proposta por Dennis & Webster (1971) e Isaias et al. (2014), com modificações. Como controle, foram sobrepostas uma base contendo o patógeno e outra contendo somente o BDA. As placas foram mantidas a 25 °C, com fotoperíodo de 12h até o momento de avaliação.

Para os metabólitos não voláteis, quatro discos de micélio de cada espécie de *Trichoderma* foram repicados em meio BD (Batata-Dextrose) e incubados durante cinco dias em agitador orbital com temperatura de 25 °C e agitação de 150 rpm. Posteriormente, a parte líquida foi centrifugada a 1500 rpm por 10 minutos e esterilizada em filtro de membrana (0,22 µm). O filtrado foi incorporado ao meio BDA na concentração de 25%. Um disco de micélio (5mm) do patógeno no centro da placa de Petri preparada com o filtrado. As placas foram mantidas a 25 °C, com fotoperíodo de 12h e, para o controle, foi repicado um disco de micélio do patógeno no centro da placa contendo BDA sem o filtrado de *Trichoderma*.

A avaliação do crescimento micelial do patógeno foi realizada quando toda a superfície do meio foi colonizada pelos patógenos nas placas de controle, por meio da medição do diâmetro da colônia em dois sentidos opostos, determinando-se a média do crescimento micelial (cm).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 13 x 3 (13 isolados de *Trichoderma* e 3 isolados de cada fitopatógeno), com três repetições. Os dados de crescimento micelial da colônia (cm) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Turkey a 5% (CANTERI et al., 2001).

4.3 ANÁLISE DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL

O cálculo do percentual de inibição foi mediante a fórmula sugerida por MENTEN et al. (1976):

$$\% \text{ de inibição} = \frac{(c1-t1)}{c1} \times 100$$

Onde, c1 é a média de crescimento da colônia (cm) do controle e t1 a média de crescimento da colônia (cm) após tratamento realizado.

5 RESULTADOS

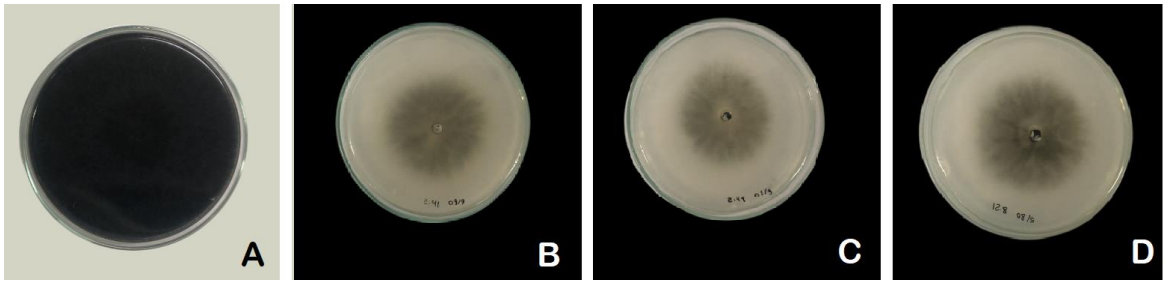
5.1 INIBIÇÃO DE *M. phaseolina* E *Fusarium* spp. POR METABÓLITOS DE *Trichoderma* spp.

No teste de metabólitos voláteis, o crescimento micelial dos isolados de *M. phaseolina*, *F. triseptatum, F. annulatum* e *F. fabacearum* foi menor que o do controle, com a capacidade de inibição do crescimento micelial variando de 9,66 a 36,44% para *M. phaseolina* e 6,88 a 32,88% para *Fusarium* spp.

Os metabólitos voláteis de *T. asperellum* (T2.12) foi o que melhor controlou o crescimento da colônia de *M. phaseolina* ARA, para BSF foram os isolados T2.12 e T2.31 e para ST foram os isolados T2.41, T2.48 e T12.8 de *T. asperelloides* (Tabela 3).

Os isolados de *T. asperelloides* T2.41 (35,22%), T2.48 (36,44%) e T12.8 (35,33%) produziram metabólitos voláteis e permitiram maiores taxas de inibição do crescimento micelial em *M. phaseolina* ST quando comparadas com a inibição do crescimento micelial dos demais isolados (Figura 3, Tabela 3).

Figura 3 – Inibição de *Macrophomina phaseolina* após tratamento com metabólitos voláteis de *Trichoderma*.



Legenda: **(A)** Controle do isolado ST, **(B):** *T. asperelloides* T2.41**, (C):** *T. asperelloides* T2.48 , (D): *T. asperelloides* T12.8

Fonte: A autora (2023)

Tabela 3. Média de crescimento da colônia (cm) e inibição do crescimento micelial (%) de isolados de *Macrophomina phaseolina* após tratamento com metabólitos voláteis produzidos por espécies de *Trichoderma*.

Isolado	Espécie	ARA		BSF		ST	
		Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição	Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição	Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição
T2.5	*T. asperelloides*	7.43bB	17,44	8.11aA	9,88	6.04eC	32,88
T2.6	*T. asperellum*	6.78deC	24,66	7.22cdA	19,77	7.03cB	21,88
T2.12	*T. asperellum*	6.13hC	31,88	6.52fB	27,55	8.13aA	9,66
T2.27	*T. asperellum*	6.69efC	25,66	6.92eB	23,11	7.52bA	16,44
T2.31	*T. asperellum*	6.49gB	27,88	6.53fB	27,44	7.48bA	16,88
T2.33	*T. asperelloides*	7.79aA	13,44	7.29cB	19,00	6.61dC	26,55
T2.41	*T. asperelloides*	7.44bB	17,33	7.99abA	11,22	5.83fC	35,22
T2.48	*T. asperelloides*	6.72efB	25,33	7.96bA	11,55	5.72fC	36,44
T5.8	*T. afroharzianum*	6.58fgB	26,88	7.13dA	20,77	7.11cA	21,00
T9.19	*T. asperellum*	6.88dC	23,55	7.26cdB	19,33	8.12aA	9,77
T12.5	*T. afroharzianum*	7.43bA	17,44	7.31cB	18,77	6.66dC	26,00
T12.8	*T. asperelloides*	7.06cA	21,55	6.93eB	23,00	5.82fC	35,33
T14.5	*T. afroharzianum*	7.19cA	20,11	7.14dA	20,66	6.72dB	25,33

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: A autora (2023)

Para os bioensaios com as espécies de *Fusarium*, os metabólitos voláteis de *T. asperelloides* (T2.33) apresentaram melhores resultados na taxa de inibição no crescimento micelial de *F. triseptatum* (F31), enquanto que os isolados *T. asperelloides* (T2.5), *T. asperellum* (T2.12) e *T. afroharzianum* (T5.8) foram mais eficientes para *F. annulatum* (F32), para *F. fabacearum* (F37) foram os isolados de *T. asperellum* (T2.6) e (T2.31) (Tabela 4).

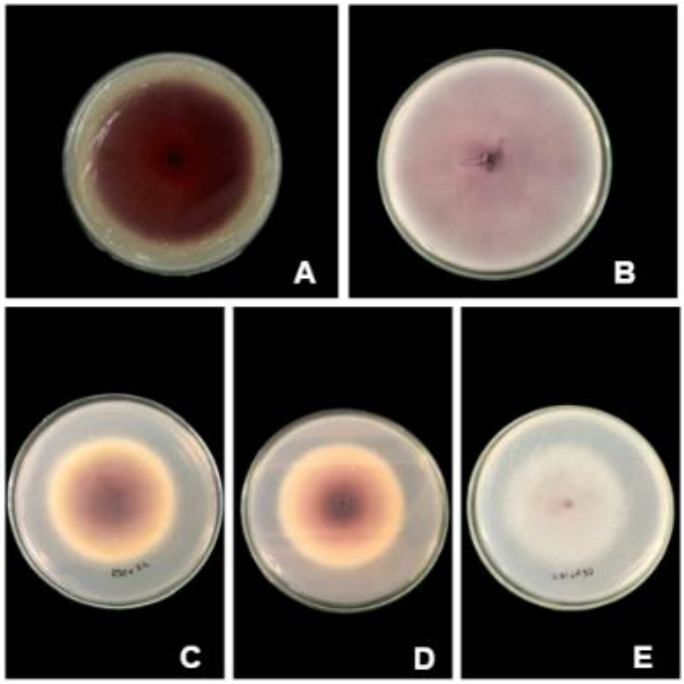
Os isolados *T. asperelloides* (T2.5) (30,88%) e *T. afroharzianum* (T5.8) (31,22%) causaram as maiores taxas de inibição de crescimento de *F. annulatum* comparadas aos demais isolados estudados. Os isolados de *T. asperellum* T2.6 (31,88%) e T2.31 (32,88%) inibiram melhor o crescimento de *F. fabacearum* (F37) (Tabela 4, Figura 4).

Tabela 4. Média de crescimento micelial (cm) e inibição do crescimento micelial (%) de *Fusarium* spp. após tratamento com metabólitos voláteis produzidos por espécies de *Trichoderma*.

Isolado	Espécie	*F. triseptatum* (F31)		*F. annulatum* (F32)		*F. fabacearum* (F37)	
		Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição	Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição	Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição
T2.5	*T. asperelloides*	6.86gB	23,77	6.22iC	30,88	7.18bA	20,22
T2.6	*T. asperellum*	7.86eA	12,66	7.37cB	18,11	6.13fC	31,88
T2.12	*T. asperellum*	7.97deA	11,44	6.28iC	30,22	6.74cB	25,11
T2.27	*T. asperellum*	8.12cA	9,77	6.89eB	23,44	6.61dC	26,55
T2.31	*T. asperellum*	8.29abA	7,88	7.17dB	20,33	6.04fC	32,88
T2.33	*T. asperelloides*	6.32iC	29,77	6.62ghA	26,44	6.44eB	28,44
T2.41	*T. asperelloides*	7.43fA	17,44	6.53hC	27,44	7.15bB	20,55
T2.48	*T. asperelloides*	7.00gB	22,22	6.96eB	22,66	7.51aA	16,55
T5.8	*T. afroharzianum*	8.09cdA	10,11	6.19iC	31,22	7.49aB	16,77
T9.19	*T. asperellum*	8.38aA	6,88	6.85efB	23,88	6.59dC	26,77
T12.5	*T. afroharzianum*	8.22bcA	8,66	7.59bB	15,66	7.62aB	15,33
T12.8	*T. asperelloides*	6.60hB	26,66	6.74fgA	25,11	6.72cdA	25,33
T14.5	*T. afroharzianum*	8.18bcA	9,11	7.88aB	12,44	7.50aC	16,66

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: A autora (2023)

Figura 4 – Inibição de *Fusarium* spp. após tratamento com metabólitos voláteis de espécies de *Trichoderma*.



Legenda: **A), (B)** Controle dos isolados de *F. annulatum* F32 e *F. fabacearum* F37, respectivamente **(C), (D)** Isolado F32 com metabólitos voláteis de *T. asperelloides* T2.5 e *T. afroharzianum* T5.8, respectivamente **(E)** Isolado F37 com metabólitos voláteis de *T. asperellum* T2.31

Fonte: A autora (2023)

Os resultados obtidos a partir dos experimentos confirmaram a produção de metabólitos tóxicos voláteis, demonstrando o efeito inibitório dos metabólitos produzidos por *Trichoderma* sobre o crescimento micelial de *M.* phaseolina e *Fusarium* spp.

Nos experimentos que empregaram os metabólitos não voláteis de *Trichoderma*, também foram obtidos resultados promissores em relação à inibição do crescimento micelial de *M. phaseolina* e *Fusarium* spp. Foi observado um percentual de inibição variando de 0,33 a 54,77% para *M. phaseolina*. *T. asperellum* (T2.27) e *T. afroharzianum* (T14.5) demonstraram o melhor controle no crescimento da colônia de *M. phaseolina* para o isolado ARA. No caso do isolado BSF, o isolado mais eficaz foi *T. asperelloides* T2.41, enquanto para ST destacou-se *T. asperelloides* T14.5, seguido de *T. asperelloides* T2.33 (Tabela 5). Em

relação à inibição do crescimento micelial de *M. phaseolina* BSF, os isolados *T. asperelloides* T2.41 (54,77%) e T2.48 (44,33%) e *T. afroharzianum* T14.5 (46,44%) exibiram as taxas mais elevadas, superando a inibição observada para os demais isolados (Tabela 5; Figura 5).

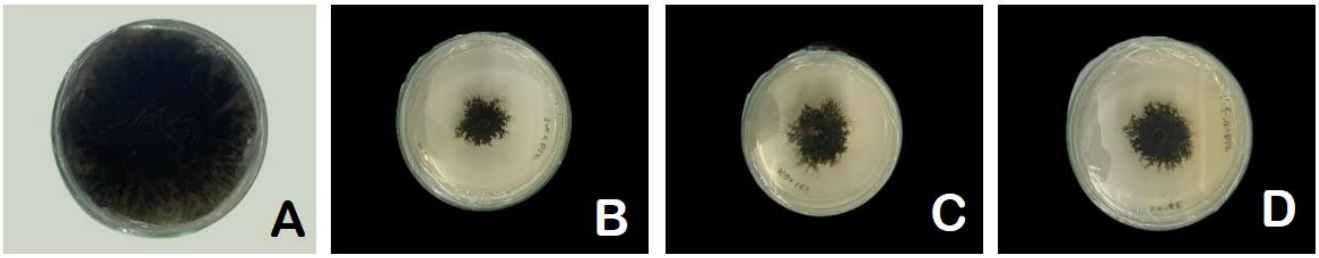
Tabela 5. Média de crescimento da colônia (cm) e inibição do crescimento micelial (%) de *Macrophomina phaseolina* após tratamento com metabólitos não voláteis produzidos por espécies de *Trichoderma*.

Isolado	Espécie	ARA		BSF		ST	
		Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição	Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição	Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição
T2.5	*T. asperelloides*	7.77dA	14,44	5.18gC	42,44	6.77dB	24,77
T2.6	*T. asperellum*	7.07gB	21,44	8.96aA	0,44	8.96aA	0,44
T2.12	*T. asperellum*	7.10gB	21,11	8.95aA	0,55	8.96aA	0,44
T2.27	*T. asperellum*	6.08iB	32,44	7.47bA	17,00	7.46bA	17,11
T2.31	*T. asperellum*	6.57hC	27,00	7.01dB	22,11	7.38bA	18,00
T2.33	*T. asperelloides*	8.39bA	6,77	5.49fC	39,00	5.88gB	34,77
T2.41	*T. asperelloides*	6.68hA	25,77	4.07jC	54,77	6.48eB	28,00
T2.48	*T. asperelloides*	7.58eA	15,78	5.01hC	44,33	6.21fB	31,00
T5.8	*T. afroharzianum*	8.03cB	10,77	8.93aA	0,78	8.94aA	0,67
T9.19	*T. asperellum*	7.27fB	19,22	7.19cB	20,11	7.42bA	17,55
T12.5	*T. afroharzianum*	8.14cB	9,55	8.97aA	0,33	8.94aA	0,66
T12.8	*T. asperelloides*	8.96aA	0,44	6.56eC	27,11	7.04cB	21,78
T14.5	*T. afroharzianum*	6.19iA	31,22	4.82iC	46,44	5.69hB	36,77

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: A autora (2023)

Figura 5 – Inibição de *Macrophomina phaseolina* após tratamento com metabólitos não voláteis de *Trichoderma*.

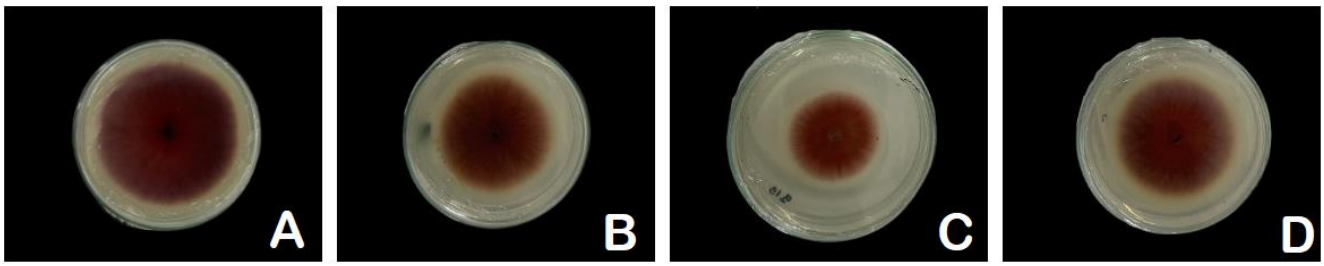


Legenda: **(A)** Controle do isolado de *M. phaseolina* BSF **(B), (C), (D)** Isolado BSF com metabólitos não voláteis de *T. asperelloides* T2.41, T2.48 e *T. afroharzianum* T14.5, respectivamente.

Fonte: A autora (2023)

No teste de metabólitos não voláteis, o percentual de inibição variou de 0,55 a 39,11% para *Fusarium* spp., evidenciando o potencial dos metabólitos não voláteis como agentes inibidores do crescimento dos patógenos. O isolado *T. asperelloides* (T2.48) foi o mais eficaz no controle do crescimento da colônia de *F. triseptatum* (F31). Quanto a *F. annulatum* (F32) e *F. fabacearum* (F37), *T. asperellum* (T9.19) apresentou os melhores resultados (Tabela 6). As taxas mais significativas de inibição do crescimento foram para *F. annulatum* causadas pelos isolados *T. asperelloides* T9.19 (39,11%) e *T. afroharzianum* T5.8 (34,44%), T12.5 (34,00%) e T14.5 (36,11%) (Figura 6; Tabela 6;).

Figura 6 – Inibição de *Fusarium annulatum* após tratamento com metabólitos não voláteis de *Trichoderma*.



Legenda: **(A)** Controle do isolado de *F. annulatum* F32 **(B), (C), (D)** Isolado F32 com metabólitos não voláteis de *T. afroharzianum* T5.8, *T. asperellum* T9.19 e *T. afroharzianum* T14.5, respectivamente.

Fonte: A autora (2023)

Tabela 6. Média de crescimento da colônia (cm) e inibição do crescimento micelial (%) de *Fusarium* spp. após tratamento com metabólitos não voláteis produzidos por espécies de *Trichoderma*.

Isolado	Espécie	*F. triseptatum* (F31)		*F. annulatum* (F32)		*F. fabacearum* (F37)	
		Média do crescimento da colônia (cm)	% de inibição	Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição	Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição
T2.5	*T. asperelloides*	8.32eA	7,55	8.07bB	10,33	7.48dC	16,88
T2.6	*T. asperellum*	8.36deA	7,11	6.88eC	23,56	7.71cB	14,33
T2.12	*T. asperellum*	8.91aA	1,00	7.34dB	18,44	8.95aA	0,55
T2.27	*T. asperellum*	8.58cB	4,66	7.64cC	15,11	8.95aA	0,55
T2.31	*T. asperellum*	8.61cA	4,33	7.55cB	16,11	7.47dB	17,00
T2.33	*T. asperelloides*	8.77abA	2,55	8.20bB	8,88	7.89bC	12,33
T2.41	*T. asperelloides*	8.63bcA	4,11	8.48aB	5,77	7.17eC	20,33
T2.48	*T. asperelloides*	7.88fB	12,44	8.11bA	9,89	6.87fC	23,70
T5.8	*T. afroharzianum*	8.62bcA	4,22	5.90fC	34,44	7.49dB	16,77
T9.19	*T. asperellum*	8.31eA	7,67	5.48hC	39,11	6.07gB	32,55
T12.5	*T. afroharzianum*	8.88aA	1,33	5.93fB	34,00	8.91aA	1,00
T12.8	*T. asperelloides*	8.87aA	1,44	8.17bB	9,22	6.78fC	24,66
T14.5	*T. afroharzianum*	8.48cdA	5,77	5.74gC	36,11	7.17eB	20,33

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: A autora (2023)

Uma análise comparativa entre os dois grupos de compostos revelou que os metabólitos voláteis e não voláteis produzidos pelas espécies de *Trichoderma* estudadas causaram inibição de crescimento dos isolados de *M. phaseolina,* variando conforme o isolado (Tabela 7). Para os isolados de *F. triseptatum, F. annulatum* e *F. fabacearum,* os compostos voláteis exibiram uma inibição superior em relação aos não voláteis (Tabela 8).

Tabela 7. Média de crescimento da colônia (cm) e de inibição do crescimento micelial (%) de *Macrophomina phaseolina* por compostos voláteis e não voláteis produzidos por *Trichoderma*.

Isolado	Espécie	Voláteis		Não Voláteis	
		Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição	Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição
T2.5	*T. asperelloides*	7.19bcA	20,11	6.57fB	27,00
T2.6	*T. asperellum*	7.01deB	22,11	8.33bA	7,44
T2.12	*T. asperellum*	6.93efB	23,00	8.34bA	7,33
T2.27	*T. asperellum*	7.04deA	21,77	7.00eA	22,22
T2.31	*T. asperellum*	6.83fgB	24,11	6.99eA	22,33
T2.33	*T. asperelloides*	7.23bA	19,66	6.59fB	26,77
T2.41	*T. asperelloides*	7.09cdeA	21,22	5.75hB	36,11
T2.48	*T. asperelloides*	6.80gA	24,44	6.26gB	30,44
T5.8	*T. afroharzianum*	6.94efB	22,88	8.64aA	4,00
T9.19	*T. asperellum*	7.42aA	17,55	7.29dB	19,00
T12.5	*T. afroharzianum*	7.13bcdB	20,77	8.68aA	3,55
T12.8	*T. asperelloides*	6.60hB	26,66	7.52cA	16,44
T14.5	*T. afroharzianum*	7.02deA	22,00	5.57iB	38,11
Média			22,02		20,05

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: A autora (2023)

Tabela 8. Média de crescimento da colônia (cm) e de inibição do crescimento micelial (%) de *Fusarium* spp. por compostos voláteis e não voláteis produzidos por*Trichoderma*.

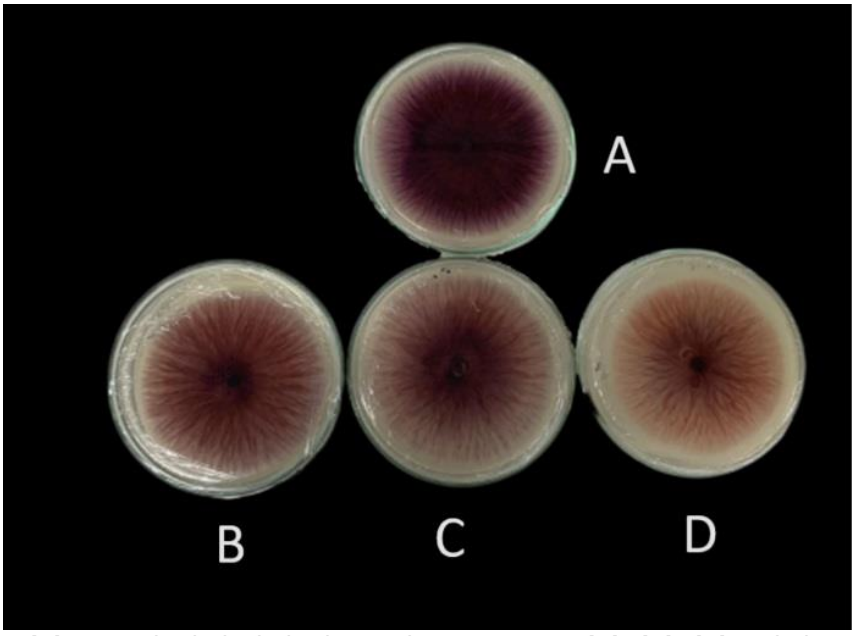
Isolado	Espécie	Voláteis		Não Voláteis	
		Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição	Média de crescimento da colônia (cm)	% de inibição
T2.5	*T. asperelloides*	6.75fB	25,00	7.96bcA	11,55
T2.6	*T. asperellum*	7.12cdeB	20,88	7.65dA	15,00
T2.12	*T. asperellum*	7.00eB	22,22	8.40aA	6,66
T2.27	*T. asperellum*	7.20bcB	20,00	8.39aA	6,77
T2.31	*T. asperellum*	7.17bcdB	20,33	7.87cA	12,55
T2.33	*T. asperelloides*	6.46gB	28,22	8.29aA	7,88
T2.41	*T. asperelloides*	7.04deB	21,77	8.09bA	10,11
T2.48	*T. asperelloides*	7.16bcdB	20,44	7.62dA	15,33
T5.8	*T. afroharzianum*	7.26bA	19,33	7.34eA	18,44
T9.19	*T. asperellum*	7.27bA	19,22	6.62gB	26,44
T12.5	*T. afroharzianum*	7.81aB	13,22	7.91cA	12,11
T12.8	*T. asperelloides*	6.69fB	25,66	7.94cA	11,77
T14.5	*T. afroharzianum*	7.85aA	12,77	7.13fB	20,77
Média			20,69		13,49

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: A autora (2023)

Foi possível observar que os metabólitos não voláteis de *Trichoderma* spp. causaram mudança na coloração do micélio dos isolados de *Fusarium spp.*, ficando com tonalidade mais clara, e levemente amarelada como observado em *F. annulatum* (Figuras 7, 8 e 9), porém, são necessários outros estudos para avaliar possíveis variações na esporulação dos isolados de *Fusarium* spp. após o tratamento com os metabólitos.

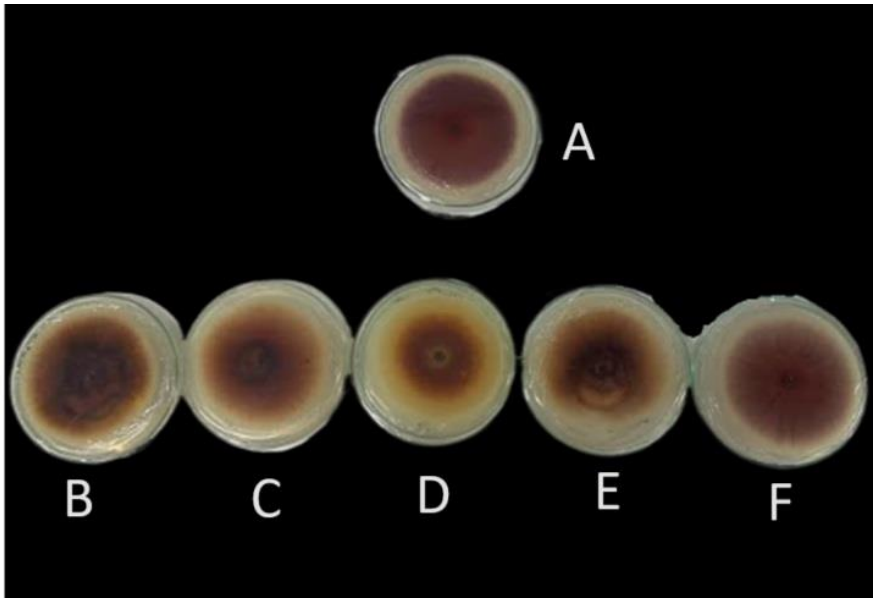
Figura 7 – Mudança de coloração do micélio de isolado de *Fusarium triseptatum* F31 após tratamento com metabólitos não voláteis de *Trichoderma afroharzianum*



Legenda: **(A)** Controle do isolado de *F. triseptatum* F31 **(B), (C), (D)** Isolado F31 com metabólitos não voláteis de *T. afroharzianum* T5.8, T12.5 e T14.5, respectivamente.

Fonte: A autora (2023)

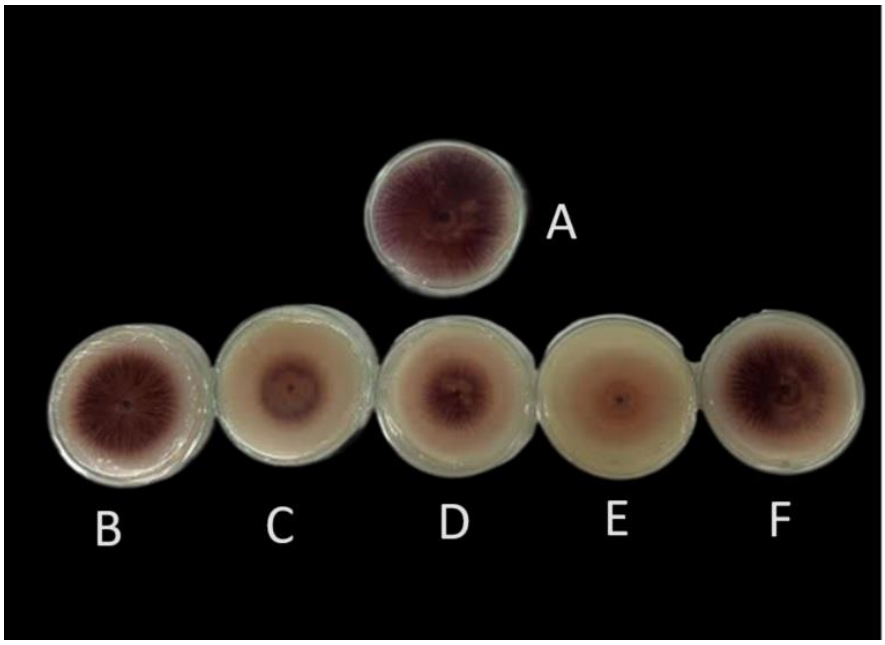
Figura 8 – Mudança de coloração do micélio de isolado *Fusarium annulatum* F32 após tratamento com metabólitos não voláteis de *Trichoderma asperelloides.*



Legenda: **(A)** Controle do isolado de *F. annulatum* (F32) **(B), (C), (D), (E), (F)** Isolado F32 com metabólitos não voláteis de *T. asperelloides*: T2.5, T2.33, T2.41, T2.48 e T12.8, respectivamente.

Fonte: A autora (2023)

Figura 9 – Mudança de coloração do micélio de isolado *F. fabacearum* F37 após tratamento com metabólitos não voláteis de *Trichoderma asperellum.*



Legenda: (**A)** Controle do isolado de *F. fabacearum* F37 **(B), (C), (D), (E), (F)** Isolado F37 com metabólitos não voláteis de *T. asperellum*: T2.6, T2.12, T2.27, T2.31 e T9.19, respectivamente

Fonte: A autora (2023)

Dentre os isolados testados, destacaram-se *T. asperelloides* (T2.41 e T2.48) contra *M. phaseolina* (ST e BSF), *T. asperellum* (T9.19) e *T. afroharzianum* (T14.5) contra *F. annulatum*, os quais serão empregados em estudos posteriores destinados a elucidar o potencial de seus metabólitos no contexto do biocontrole.

6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram consistentemente a eficácia da utilização de isolados de *Trichoderma* no controle dos fitopatógenos *M. phaseolina* e *Fusarium* spp. A eficiência da utilização de *Trichoderma* no tratamento de diferentes fungos fitopatogênicos foi verificada em outros estudos como de Bonett et al. (2013) por meio do teste de cultivo pareado em que todos os isolados de *Trichoderma* testados inibiram o crescimento de *Colletotrichum musae.* Enquanto, El-Rayes et al. (2022) testaram *T*. *harzianum* e *T. viride* que foram eficazes na redução do crescimento linear de *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani in vitro* e *in vivo*.

De acordo com os resultados obtidos neste estudo na inibição de *M. phaseolina* a partir dos metabólitos voláteis de *Trichoderma* spp., foi observado que a inibição foi maior que o encontrado por Broetto et al. (2014), em que a capacidade de inibição do crescimento micelial pelos diferentes isolados de *Trichoderma* testados variou de 0,6 a 23,1%.

O estudo de Bonett et al. (2013) ressalta a influência da seleção de diferentes isolados de *Trichoderma* na inibição do crescimento de fitopatógenos, demonstrando que a escolha das espécies de *Trichoderma* pode ser crucial para a eficácia do controle de fitopatógenos. Aa presente pesquisa corrobora os resultados de Bonett et al. (2013), pois diferentes isolados de *Trichoderma* apresentaram variabilidade na capacidade de inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos estudados.

Os isolados *T. asperelloides* T2.41, T2.48, T12.8, mostraram ser produtores de metabólitos voláteis, pois inibiram o crescimento micelial de *M. phaseolina*. Segundo Phoka et al. (2020), a principal razão está relacionada com o percentual de inibição do desenvolvimento micelial de *M. phaseolina*, causado pelos compostos voláteis produzidos por *T.*

asperelloides, reside na produção de substâncias reconhecidas como antifúngicas, tais como ácido acético, 2-metil-1-butanol e 6-pentil-2H-pirano-2-ona (6-PP).

Boat et al. (2020) testaram algumas espécies de fungos fitopatógenos de feijão comum, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *M. phaseolina* e *Pythium ultimun* utilizando a metodologia de metabólitos voláteis. Estes autores observaram que *T. asperellum* inibiu 14,4% do crescimento micelial de *F. oxysporum* e 28.9% de *M. phaseolina*. Esses resultados diferem dos obtidos no presente estudo, em que o valor médio de inibição de *Fusarium* causado por isolados de *T. asperellum* foi maior, com inibição de 30,22% para *F. annulatum* e 32,88% para *F. fabacearum.* Entretanto, no estudo realizado por Boat et. al. (2020), com metabólitos voláteis de *T. afroharzianum,* observaram resultados melhores para ambos os fitopatógenos, inibindo 41,8% para *Fusarium* e 45,4% para *Macrophomina,* enquanto o presente trabalho obteve 31,22% e 26,88% de inibição para *Fusarium* e *Macrophomina*, respectivamente, o que indica que a atividade antifúngica está não só relacionada à espécie, mas também à cepa específica utilizada devido a sua variabilidade genética.

Gabardo et al. (2020) afirmaram que os metabólitos tóxicos voláteis de *T. asperellum* são eficientes como agentes antagonistas de outros patógenos, além dos citados neste estudo, inibindo, por exemplo, mais de 80 e 70% o crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii* e *Rhizoctonia solani*, respectivamente.

Assim como para os metabólitos voláteis, a maior inibição do crescimento de *M. phaseolina* BSF foi causada por metabólitos não voláteis de *T. asperelloides* T2.41 (54,77%), diferindo do observado para *Fusarium* spp., cuja taxa de inibição variou de 1,44 a 24,66%. Apesar disso, outros estudos demonstraram que *T. asperelloides* foi eficiente na inibição de fitopatógenos como *F. oxysporum* (39.33%), *Botrytis cinerea* (62.54%) (Redda et al., 2018) e *F. oxysporum* (67%) (Rodríguez-García et al.,2020).

Em teste com metabólitos não voláteis de *Trichoderma*, Das & Mahapatra (2023) obtiveram uma taxa máxima de inibição de 39,64% para *F. oxysporum*, resultado semelhante ao deste estudo, em que o maior índice de inibição para *Fusarium* foi causado por *T. asperellum* T9.19 (39,11%) contra *F. annulatum* F32. De acordo com Boat et al. (2020), metabólitos não voláteis de *T. asperellum* inibiu 13,7% do crescimento de *F. oxysporum* e 34,1% de *M. phaseolina*, enquanto *T. afroharzianum* inibiu 63.7% de *Fusarium* e 68.1% de *Macrophomina*. *T. asperellum* comprovadamente produz compostos orgânicos não voláteis como trichodermaerina, asperelinas (G, H, A, C, D, E, F), declorotricodenona C, 3β,5α,9α-trihidroxiergosta-7,22-dien-6-ona, muitos destes com capacidade antifúngica (DUTTA; DEB; PANDEY, 2022; LI; LI; ZHANG, 2019).

A espécie *T. afroharzianum* também causou altos índice de inibição, atingindo 46,44% de inibição para *M. phaseolina* e 36,11% para *F. annulatum* na presença de metabólitos não voláteis. É conhecido que *T. afroharzianum* produz uma substância natural não volátil chamada ácido harziânico, que desempenha um papel crucial na inibição de uma enzima fundamental para muitos fungos: a acetohidroxiácido sintase, importante enzima na produção de bioherbicidas e na produção de antifúngicos. Além disso, *T. afroharzianum* possui a capacidade de secretar outras enzimas como proteases, celulases, xilanases, além de compostos fenólicos, o que fundamenta seu notável potencial na inibição de vários patógenos (XIE et al., 2021).

O êxito de *Trichoderma* spp. em inibir fungos fitopatogênicos pode ser atribuído à ação combinada de metabólitos secundários e enzimas hidrolíticas (KHAN et al., 2020). De acordo com Padjama et al. (2013), as espécies de *Trichoderma* possuem a capacidade de produzir mais de 40 metabólitos secundários distintos, os quais desempenham um papel significativo em sua atividade antagônica. Vários metabólitos com ação antimicrobiana são produzidos por *Trichoderma* spp como antraquinonas, daucanos, tricodermamidas, terpenos, butenolídeos e

pironas (Poole et al.,1998). REINO et al. (2008) testaram a ação antimicrobiana de pironas *in vitro* em que houve a redução de 31,7% do crescimento de *F. oxysporum*.

O alto grau de polimorfismo genético identificado em diferentes trabalhos sugere uma grande diversidade genética entre os isolados de *M. phaseolina* (SOWMYA; NAIK; NAIK, 2022; TANČIĆ ŽIVANOV et al., 2019). Essa variabilidade genética pode influenciar diretamente a susceptibilidade dos isolados a diferentes tipos de metabólitos. Isolados geneticamente distintos podem ter respostas variáveis aos compostos químicos, incluindo metabólitos voláteis e não voláteis, devido às diferenças em seus perfis bioquímicos e enzimáticos, o que justifica a observação de que o isolado de *Macrophomina* ST foi mais susceptível à inibição por metabólitos voláteis, enquanto o isolado BSF foi mais susceptível à inibição por metabólitos não voláteis.

A compreensão dessa variabilidade na susceptibilidade é crucial para o desenvolvimento de estratégias de controle biológico direcionadas e personalizadas. Por exemplo, se um determinado isolado é mais susceptível a metabólitos voláteis, então técnicas que envolvem a liberação controlada desses compostos podem ser exploradas como uma estratégia eficaz de controle (TILOCCA; CAO; MIGHELI, 2020).

Uma análise comparativa entre os metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma* revelou que embora ambos tenham demonstrado eficácia no controle dos patógenos, os resultados sugerem que os metabólitos voláteis podem ter uma vantagem em relação aos não voláteis, pois os metabólitos voláteis podem atuar de maneira mais rápida e eficiente devido a sua volatilidade, enquanto os metabólitos não voláteis podem ter um efeito mais duradouro devido à sua persistência no ambiente do solo (HONEKER et al., 2021).

A mudança de coloração observada no micélio dos isolados de *Fusarium* spp. que foram submetidos ao bioensaio com os metabólitos não voláteis de *Trichoderma*, demonstra que pode haver inibição na

produção de pigmentos pelo fitopatógeno. Esses achados concordam com aqueles encontrados por Mironenka et al. (2021) que reportaram que os metabólitos presentes no extrato de *T. harzianum* demonstram a capacidade de inibir o crescimento micelial e a conidiogênse de *F. culmorum in vitro*, além de inibir a produção de corantes e da principal micotoxina, a zearalenona.

A eficácia dos metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma*, destacada neste estudo, sugere a viabilidade dessas substâncias como ferramentas estratégicas no manejo de doenças em cultivos de feijão comum. A ênfase na seleção criteriosa de espécies e cepas específicas de *Trichoderma* destaca a importância de abordagens personalizadas para o controle biológico, reconhecendo a variabilidade genética entre fitopatógenos e isolados de *Trichoderma*. Os resultados não apenas fortalecem a base teórica do uso de *Trichoderma* na agricultura, mas também aponta para estratégias práticas que podem ser exploradas para otimizar o manejo fitossanitário em plantações de feijão comum.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma* mostram eficácia no controle dos fitopatógenos estudados. Alguns isolados de *Trichoderma* deverão ser conduzidos para estudos posteriores, em especial, *T. asperelloides* (T2.41 e T2.48) contra *M. phaseolina* (ST e BSF), *T. asperellum* (T9.19) e *T. afroharzianum* (14.5) contra *F. annulatum.*
- Os compostos não voláteis de *T. afroharzianum* (T5.8 e T12.5) diminuem o crescimento micelial de *F. annulatum*.
- Os metabólitos voláteis de *T. asperelum* (T2.31 e T2.6) são eficazes no controle de *F. fabacearum* do feijoeiro comum.
- Os metabólitos não voláteis do isolado *T. afroharzianum* T14.5 apresenta ação antagonista em *M. phaseolina* e *F. annulatum*,
- A diversidade de compostos bioativos produzidos fundamenta o notável potencial de *T. afroharzianum* na inibição de uma variedade de patógenos, conferindo-lhe relevância em estratégias de controle biológico. Os metabólitos destes fungos poderão ser explorados no manejo de doenças em feijão comum, contribuindo para estratégias mais sustentáveis de manejo fitossanitário.
- A atividade dos metabólitos voláteis e não voláteis produzidos por *Trichodema* spp. nesse estudo sobre as espécies *M. phaseolina*, *F. triseptatum*, *F. annulatum* e *F. fabacearum* constituem uma promissora e eficaz estratégia para o controle destes fitopatógenos, com ênfase nos metabólitos voláteis.

REFERÊNCIAS

ABREU, L. M. DE; PFENNING, L. H. O gênero *Trichoderma*. Em: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. DA (Eds.). ***Trichoderma*: uso na agricultura**. Brasília: Embrapa, 2019. p. 163–179.

AFOLABI, O. O. et al. *Fusarium* and *Sarocladium* Species Associated with Rice Sheath Rot Disease in Sub-Saharan Africa. **Diversity**, v. 15, n. 10, p. 1090, 2023. https://doi.org/10.3390/d15101090

AKHAVAN, A. et al. Bean common bacterial blight: pathogen epiphytic life and effect of irrigation practices. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 41. 2013. doi:10.1186/2193-1801-2-41

AL-ANI, L. K. T. Bioactive Secondary Metabolites of *Trichoderma* spp. for Efficient Management of Phytopathogens. *In*: SINGH, H. B. et al. (Eds.). **Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms: Discovery and Applications**. Singapore: Springer, 2019. p. 125–143.

ALMOMANI, F.; ALHAWATEMA, M.; HAMEED, K. Detection, identification and morphological characteristic of *Macrophomina phaseolina*: the charcoal rot disease pathogens isolated from infected plants in Northern Jordan. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 46, n. 9, p. 1005–1014, 2013. https://doi.org/10.1080/03235408.2012.756174

ALY, A. A. et al. Differential antagonism of *Trichoderma* sp. against *Macrophomina phaseolina*. **Journal of Plant Protection Research**, v. 47, n. 2, p. 91–102, 2007.

AOKI, T.; O'DONNELL, K.; GEISER, D. M. Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. **Journal of General Plant Pathology**, v. 80, n. 3, p. 189–201, 2014. https://doi.org/10.1007/s10327-014-0509-3

BABU, B. K.; SAIKIA, R.; ARORA, D. K. Molecular Characterization and Diagnosis of *Macrophomina phaseolina*: A Charcoal Rot Fungus. Em: GHERBAWY, Y.; VOIGT, K. (Eds.). **Molecular Identification of Fungi**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2010. p. 179–193.

BATISTA, R. O. et al. Inheritance of resistance to Fusarium wilt in the carioca grain type common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 22, e41362242, 2022.

BATISTA, R. O. et al. Resistance to Fusarium wilt in common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, p. 226–233, 2016. https://doi.org/10.1590/1984-70332016v16n3a34

BEAS-FERNÁNDEZ, R. et al. Characterization of Mexican and Non-Mexican isolates of *Macrophomina phaseolina* based on morphological characteristics, pathogenicity on bean seeds and endoglucanase genes. **Journal of Plant Pathology**, v. 88, n. 1, p. 53–60, 2006.

BOAT, B. M. A. et al. Screening, identification and evaluation of *Trichoderma* spp. for biocontrol potential of common bean damping-off pathogens. **Biocontrol Science and Technology**, v. 30, n. 3, p. 228–242, 2020. https://doi.org/10.1080/09583157.2019.1700909

BENÍTEZ, T. et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology: The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249–260, 2004.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Impacto das mudanças climáticas sobre o controle biológico de doenças de plantas. Em: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e Perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 29–48.

BONETT, L. P. et al. Compostos nutricionais e fatores antinutricionais do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 11, n. 3, p. 235–246, 2007.

BONETT, L. P. et al. Biocontrole in Vitro de *Colletotrichum musae* por isolados de *Trichoderma* spp. **UNICIÊNCIAS**, v. 17, n. 1, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar (Pronaf). [Brasília]: Ministério da Saúde, 05 jan. 2023. Disponível em: https://www.gov.br/pt-br/servicos/acessar-o-programa-nacional-de-fortalecimento-da-agricultura-familiar-pronaf . Acesso em: 17 jul. 2023.

BROETTO, L. et al. Crescimento micelial e produção de microescleródios de *Macrophomina phaseolina* confrontado com diferentes isolados de *Trichoderma* sp. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 13, n. 4, p. 310–317, 2014. https://doi.org/10.18188/sap.v13i4.7893

BROTMAN, Y.; KAPUGANTI, J. G.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current biology: CB**, v. 20, n. 9, p: R390-391, 2010.

BUTT, T. M.; COPPING, L. G. Fungal biological control agents. **Pesticide Outlook**, v. 11, n. 5, p: 186–191, 2000.

CANTERI, M. G. et al. SASM-Agri - Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, N.2, p:18-24. 2001.

CARMONA, S. L. et al. Characterization of Pathogenic and Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Isolates Associated with Commercial Tomato Crops in the Andean Region of Colombia. **Pathogens**, v. 9, n. 1, p. 70, jan. 2020. http://dx.doi.org/10.3390/pathogens9010070

CASA, R. T. et al. Podridão radicular em feijão no sistema plantio direto. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 10, n. 1, p. 37–43, 2011.

CHAMORRO, M. et al. Evaluation of biosolarization for the control of charcoal rot disease (*Macrophomina phaseolina*) in strawberry. **Crop Protection**, v. 67, p. 279–286, 2015. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.10.021

COMINELLI, E. et al. Antinutritional factors, nutritional improvement, and future food use of common beans: A perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, e992169, 2022. DOI 10.3389/fpls.2022.992169

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira – grãos: oitavo levantamento, maio 2023 – safra 2022/23**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2023. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos. Acesso em: 13 jul. 2023.

CROUS, P. W. et al. Citizen science project reveals novel fusarioid fungi (Nectriaceae, Sordariomycetes) from urban soils. **Fungal Systematics and Evolution**, v. 8, p. 101–127, 2021a. https://doi.org/10.3114/fuse.2021.08.09

CROUS, P. W. et al. *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. **Studies in Mycology**, v. 98, p. 100116, 2021b. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100116

DA SILVA SANTOS, A. C. et al. Molecular identification of Brazilian *Fusarium* strains: sources of proteases with milk-clotting properties. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 1665–1674, 2023. https://doi.org/10.1007/s42770-023-01016-z

DAS, A.; MAHAPATRA, S. S. Screening of native *Trichoderma* isolates against soil borne pathogens of green gram. **The Pharma Innovation Journal**, v. 12, n. 5, p. 2832–2835, 2023.

DE VEGA-BARTOL, J. J. et al. New Virulence Groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*: The Expression of the Gene Coding for the Transcription Factor ftf1 Correlates with Virulence. **Phytopathology®**, v. 101, n. 4, p. 470–479, 2011. https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-10-0252

DELİGÖZ, İ. et al. Screening of snap and dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for resistance to Bean common mosaic virus and Bean

common mosaic necrosis virus. **Plant Protection Bulletin**, v. 62, n. 4, p. 5–13, 2022. https://doi.org/10.16955/bitkorb.1130635

DELL'OLMO, E. et al. Identification and Characterization of New Seedborne Pathogens in *Phaseolus vulgaris* Landraces of Southern Italy. **Pathogens**, v. 12, n. 1, p. 108, 2023. https://doi.org/10.3390/pathogens12010108

DEMARTELAERE, A. C. F. et al. Controle biológico da murcha de fusarium no feijão caupi. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 4798–4818, 2021. DOI:10.34117/bjdv7n1-326

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile antibiotics. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, n. 1, p. 41-IN4, 1 jan. 1971.

DING, Z. et al. Overexpression of Global Regulator Talae1 Leads to the Discovery of New Antifungal Polyketides from Endophytic Fungus *Trichoderma afroharzianum*. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, e 622785, 2020. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.622785

DOBBS, J. T. et al. Fusarioid community diversity associated with conifer seedlings in forest nurseries across the contiguous USA. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1104675

DUTRA, I. J. B.; MARTINS, M. C.; PARRÉ, J. L. A produção da agricultura familiar e os efeitos dos programas de incentivo. **Revista de Política Agrícola**, v. 30, n. 3, p. 94, 2021.

DUTTA, P.; DEB, L.; PANDEY, A. K. *Trichoderma*- from lab bench to field application: Looking back over 50 years. **Frontiers in Agronomy**, v. 4, 2022.

EL-HASAN A. et al. Antagonistic effect of 6-pentylalpha-pyrone produced by Trichoderma harzianum toward *Fusarium moniliforme*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 114, p. 62-68, 2006.

EL-HASAN, A. et al. New Approaches to Manage Asian Soybean Rust (*Phakopsora pachyrhizi*) Using *Trichoderma* spp. or Their Antifungal Secondary Metabolites. **Metabolites**, v. 12, n. 6, p. 507, 2022.

EL-RAYES, M. M. et al. Bioagents as Safe Control Agents against *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* of Cluster Bean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). **Egyptian Journal of Phytopathology**, v. 50, n. 2, p. 138–150, 2022.

ELAGAMEY, E. et al. Evaluation of Some Nanoparticles Against *Sclerotium rolfsii* the Cause of Root and Crown Rots in Common Beans. **Egyptian Journal of Phytopathology**, v. 50, n. 2, p. 160–176, 2022.

ETANA, D. Major Insect Pests and Diseases in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Production in Ethiopia. **Frontiers**, v. 2, n. 2, p. 79, 2022.

EVIDENTE, A. et al. Bisorbicillinoids Produced by the Fungus *Trichoderma citrinoviride* Affect Feeding Preference of the *Aphid Schizaphis* graminum. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 5, p. 533–541, 1 maio 2009.

FALL, A. L. et al. Detection and Mapping of a Major Locus for Fusarium Wilt Resistance in Common Bean. **Crop Science**, v. 41, n. 5, p. 1494–1498, 2001.

FAOSTAT. Disponível em: <https://www.fao.org/ >. Acesso em: 13 jul. 2023.

GABARDO, G. et al. *Trichoderma asperellum* and *Bacillus subtilis* as antagonists in the growth of phytopathogenic fungi in vitro. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p: 55870–55885, 2020.

GABREKIRISTOS, E.; WONDIMU, M. Emerging and Reemerging Diseases of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Major Production Areas: In the Case of Ethiopia. **Journal of Agricultural Science**, v. 14, n. 4, p: 19–34, 2022.

GALHARDO, M. et al. Poisoning by Diacetoxyscirpenol in cattle fed citrus pulp in the state of São Paulo, Brazil. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci**, v. 34, n. 2, p: 90–91, 1997.

GHAZANFAR, M. U. et al. *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: A review. **Plant Protection**, v. 2, n. 3, p: 109-135, 2018.

GHOSH, T. et al. A review on characterization, therapeutic approaches and pathogenesis of *Macrophomina phaseolina*. **Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology**, v. 19, p: 72–84, 2018.

GUPTA, G. K.; SHARMA, S. K.; RAMTEKE, R. Biology, Epidemiology and Management of the Pathogenic Fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with Special Reference to Charcoal Rot of Soybean (Glycine max (L.) Merrill). **Journal of Phytopathology**, v. 160, n. 4, p: 167–180, 2012.

HARMAN, G. E. et al. *Trichoderma* – from Basic Biology to Biotechnology. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p: 1–2, 2012.

HONEKER, L. K. et al. The Volatilome: A Vital Piece of the Complete Soil Metabolome. **Frontiers in Environmental Science**, v. 9:649905, 2021. https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.649905

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, v. 51, n. 3, p: 409–416, 2009.

IQBAL, U.; MUKHTAR, T. Inhibitory Effects of some Fungicides against *Macrophomina phaseolina* Causing Charcoal Rot. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 52, n. 2, p: 709–715, 2020.

ISAIAS, C. O. et al. Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae.* **Summa Phytopathologica**, v. 40, p: 34–41, 2014.

JANA, T. et al. Molecular characterization of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium* species by a single primer RAPD technique. **Microbiological Research**, v. 158, n. 3, p: 249–257, 2003.

JUNIOR, M. L.; MACHADO-ROSA, T. A.; GERALDINE, A. M. Uso de Trichoderma na cultura do feijão-comum. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. DA (Eds.). ***Trichoderma*: uso na agricultura**. 1.ed. Brasília: Embrapa, 2019. p. 538.

KARAVIDAS, I. et al. Agronomic Practices to Increase the Yield and Quality of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.): A Systematic Review. **Agronomy**, v. 12, n. 2, p: 271, 2022. https://doi.org/10.3390/agronomy12020271

KAUR, S. et al. Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic trends. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 38, n. 2, p: 136–151, 2012.

KEE, Y. J.; ZAKARIA, L.; MOHD, M. H. Morphology, phylogeny and pathogenicity of *Fusarium* species from *Sansevieria trifasciata* in Malaysia. **Plant Pathology**, v. 69, n. 3, p: 442–454, 2020.

KHALEDI, N.; TAHERI, P.; TARIGHI, S. Antifungal activity of various essential oils against *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* as major bean pathogens. **Journal of Applied Microbiology**, v. 118, n. 3, p: 704–717, 2015.

KHAN, R. A. A. et al. Bioactive Secondary Metabolites from *Trichoderma* spp. against Phytopathogenic Fungi. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, p: 817, 2020.

KOUADRI, M. E. A.; BEKKAR, A. A.; ZAIM, S. Morphological, molecular and pathogenic characterization of *Macrophomina pseudophaseolina* the causal agent of charcoal rot disease on lentil (*Lens culinaris*) in Algeria. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 128, p: 102143, 2023.

LI, M.-F.; LI, G.-H.; ZHANG, K.-Q. Non-Volatile Metabolites from *Trichoderma* spp. **Metabolites**, v. 9, n. 3, p: 58, 2019.

LODHA, S.; MAWAR, R. Population dynamics of *Macrophomina phaseolina* in relation to disease management: A review. **Journal of Phytopathology**, v. 168, n. 1, p: 1–17, 2020.

MACHADO, A. R. et al. Bayesian analyses of five gene regions reveal a new phylogenetic species of Macrophomina associated with charcoal rot on oilseed crops in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 153, n. 1, p: 89–100, 2019.

MACHADO, D. F. M. et al. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p: 274–288, 2012.

MAHDIZADEH, V.; SAFAIE, N.; GOLTAPEH, E. M. Diversity of *Macrophomina phaseolina* Based on Morphological and Genotypic Characteristics in Iran. **The Plant Pathology Journal**, v. 27, n. 2, p: 128–137, 2011.

MAINA, P. et al. Cultural, Morphological and Pathogenic Variability among *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* Causing Wilt in French Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Advances in Microbiology**, v. 2, n. 4, p: 1–9, 2017.

MARCENARO, D.; VALKONEN, J. P. T. Seedborne Pathogenic Fungi in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* cv. INTA Rojo) in Nicaragua. **PLOS ONE**, v. 11, n. 12, p: e0168662, 2016.

MARIOT, E.J. Ecofisiologia do Feijoeiro. In: IAPAR (Ed.). **O feijão no Paraná**. Londrina: IAPAR, 1989.

MARQUEZ, N. et al. *Macrophomina phaseolina*: General Characteristics of Pathogenicity and Methods of Control. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 2021.

MAYEK-PÉREZ, N. et al. Water relations, histopathology and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during pathogenesis of *Macrophomina phaseolina* under drought stress. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 60, n. 4, p: 185–195, 2002.

MENTEN, J. O. M. et al. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tassi Goid) *In vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 1, n. 2, p: 57–66, 1976.

MICHEREFF, S. J. et al. Importância dos Patógenos e das Doenças Radiculares em Solos Tropicais. *In*: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. p. 398.

MIRONENKA, J. et al. *Trichoderma harzianum* metabolites disturb *Fusarium culmorum* metabolism: Metabolomic and proteomic studies. **Microbiological Research**, v. 249, p: 126770, 2021.

MOCHIAH, M. B. et al. Minimizing Insecticide application for sustainable cowpea and livestock production. **International Journal of Agriculture and Food Science Technology**, v. 10, n. 1, p: 1–12, 2019.

MORAES, E. DA S.; MENELAU, A. S. Análise do mercado de feijão comum. **Revista de Política Agrícola**, v. 26, n. 1, p: 81–92, 2017.

MORANDI, M. A. B. et al. Controle biológico de fungos fitopatogênicos. **Informe Agropecuário**, v. 30, n. 251, p: 73–82, 2009.

MUBARAK, A. E. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. **Food Chemistry**, v. 89, n. 4, p: 489–495, 2005.

MYCOBANK. **Fungal databases nomenclature and species banks**. Disponível em http://www.mycobank.org/ . Acesso em: 19 jul. 2023.

NASERI, B.; MOUSAVI, S. S. Root rot pathogens in field soil, roots and seeds in relation to common bean (*Phaseolus vulgaris*), disease and seed production. **International Journal of Pest Management**, v. 61, n. 1, p: 60–67, 2015.

NAVA-PÉREZ, E. et al. Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. **Ra Ximhai**, v. 8, n. 3, p: 17–29, 2012.

NIKITIN, D. A. et al. Diversity, Ecological Characteristics and Identification of Some Problematic Phytopathogenic Fusarium in Soil: A Review. **Diversity**, v. 15, n. 1, p: 49, 2023.

OLIVEIRA, L. A. DE. **Eficiência in vitro de produtos comerciais à base de antagonistas no controle de *Macrophomina phaseolina***. Monografia—Rio Grande do Norte: Universidade Federal Rural do Semi-árido, 2022.

OLIVEIRA, L. G. et al. *Trichoderma* Species from Soil of Pernambuco State, Brazil. **Current Microbiology**, v. 80, n. 9, p: 289, 2023. https://doi.org/10.1007/s00284-023-03401-1

PADMAJA, M. et al. In Vitro Antagonism of Native Isolates of *Tricoderma* spp Against *Sclerotium rolfsii*. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 4, n. 3, p: 886–891, 2013.

PALMIERI, D. et al. Advances and Perspectives in the Use of Biocontrol Agents against Fungal Plant Diseases. **Horticulturae**, v. 8, n. 7, p: 577, 2022.

PANDEY, A. K. et al. Morphological and molecular characterization of *Macrophomina phaseolina* isolated from three legume crops and evaluation of mungbean genotypes for resistance to dry root rot. **Crop Protection**, v. 127, p: 104962, 2020.

PATEL, N. et al. Agronanotechnology for Plant Fungal Disease Management: A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 3, n. 10, p: 71–84, 2014.

PEDRO, E. A. DE S. et al. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p: 1589–1595, 2012.

PEREIRA, H. S. et al. Genetic diversity among common bean cultivars based on agronomic traits and molecular markers and application to recommendation of parent lines. **Euphytica**, v. 215, n. 2, p: 38, 2019.

PEREIRA, V. G. C. et al. Exigências Agroclimáticas para a Cultura do Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 3, n. 1, 2014.

PHOKA, N. et al. Role of Volatiles from the Endophytic Fungus *Trichoderma asperelloides* PSU-P1 in Biocontrol Potential and in Promoting the Plant Growth of *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p: 341, 2020

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. DA S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas - Uma visão empresarial. Em: **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. 1. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 341.

POOLE, P. R.; WARD, B. G.; WHITAKER, G. The effects of topical treatments with 6-pentyl-2-pyrone and structural analogues on stem end postharvest rots in kiwifruit due to *Botrytis cinerea*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, n. 1, p: 81–86, 1998.

PRIA, M. D.; SILVA, O. C. DA (EDS.). **Cultura do feijão: doenças e controle**. 1. ed. Ponta Grossa: UEPG, 2018.

RAHIM, S.; IQBAL, M. Exploring Enhanced Insecticidal Activity of Mycelial Extract of *Trichoderma harzianum* against *Diuraphis noxia* and *Tribolium castaneum*. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 3, n. 35, p: 757–762, 2019.

RAMADA, M. H. S.; LOPES, F. A. C.; ULHOA, C. J. *Trichoderma*: metabólitos secundários. Em: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA,

J. C. DA (Eds.). ***Trichoderma*: uso na agricultura**. Brasília: Embrapa, 2019. P: 201–218.

REDDA, E. T. et al. Antagonistic Potential of Different Isolates of *Trichoderma* against *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, and *Botrytis cinerea*. **European Journal of Experimental Biology**, v. 8, n. 2, p. 0–0, 2018.

REINO, J. L. et al. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p: 89–123, 2008.

RODRÍGUEZ-GARCÍA, D. et al. In vitro effectiveness of *Trichoderma* spp. native and imported against *Fusarium oxysporum*. **Agronomía Costarricense**, v. 44, n. 2, p: 109–125, 2020.

RUFINO, C. P. B.; ARAÚJO, C. S. DE; NOGUEIRA, S. R. Desafios na utilização do controle biológico de doenças de plantas na Amazônia. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 5, n. 1, 2018.

RUSUKU, G. et al. Occurrence and Distribution in Rwanda of Soilborne Fungi Pathogenic to the Common Bean. **Plant Disease**, v. 81, n. 5, p: 445–449, 1997.

SANTOS, A. C. DA S. et al. Molecular identification of Brazilian *Fusarium* strains: sources of proteases with milk-clotting properties. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 54, n. 3, p: 1665–1674, 1 set. 2023.

SANTOS, P. J. C. et al. Utilização de Pseudomonas fluorescens no controle biológico de Macrophomina phaseolina. In: **Jornada Acadêmica da Embrapa Soja**. Londrina:Embrapa Soja, 2010. v. 5p. 130–132.

SANTOS, T. D.; FURLONG, E. B. Biological contamination of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and its impact on food safety. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 18, p: 4998–5004, 2021.

SARR, M. P. et al. Genetic diversity in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 53, n. 2, p: 250–268, 2014.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A. Murcha ou amarelecimento de *Fusarium*. Em: SARTORATO, A.; RAVA, C. A. (Eds.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p. 175–195.

SAVITA; SHARMA, A. Fungi as Biological Control Agents. Em: GIRI, B. et al. (Eds.). **Biofertilizers for Sustainable Agriculture and**

Environment. Soil Biology. Cham: Springer International Publishing, 2019. P: 395–411.

SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 3, p:787–799, 2010.

SHARMA, A. et al. Unveiling the biocontrol potential of *Trichoderma*. **European Journal of Plant Pathology**, 25 ago. 2023.

SIDDIQUE, S. et al. Cultural Characteristics, Virulence and *In-vitro* Chemical Control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* of Bush bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **The Agriculturists**, v. 12, n. 1, p. 103–110, 6 ago. 2014.

SILVA, O. F. DA; WANDER, A. E. **O Feijão-Comum no Brasil Passado, Presente e Futuro**. 1. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2013.

SILVA, Q. C. DE L. et al. Detecção de fungos em sementes de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 2, 14 set. 2020.

SINGH, S. K.; NENE, Y. L.; REDDY, M. V. Influence of Cropping Systems on *Macrophomina phaseolina* Populations in Soil. **Plant Disease**, v. 74, p. 812–814, 1990.

SINGH, S. et al. Production and Antifungal Activity of Secondary Metabolites of *Trichoderma virens*. **Pesticide Research Journal**, 2005.

SIVIERO, A. et al. Caracterização das principais variedades locais de feijão comum e caupi do Acre. Em: MATTAR, E. P. L. et al. (Eds.). **Feijões do Vale do Juruá**. 1. ed. Rio Branco: IFAC, 2016. p. 129–163.

SOUSA, T. F. et al. *Trichoderma agriamazonicum* sp. nov. (Hypocreaceae), a new ally in the control of phytopathogens. **Microbiological Research**, v. 275, p. 127469, 2023.

SOWMYA, P.; NAIK, V.; NAIK, V. Genetic variability among South Indian isolates of *Macrophomina phaseolina*, the fungus involved in charcoal rot of mulberry and association of pathogenicity. **The Pharma Innovation Journal**, v. 11, n. 12S, p. 39–52, 2022.

STOCKMANN-JUVALA, H.; SAVOLAINEN, K. A review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B1. **Human & Experimental Toxicology**, v. 27, n. 11, p. 799–809, 2008.

TANČIĆ ŽIVANOV, S. et al. Analysis of genetic diversity among *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. isolates from Euro-Asian

countries. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 126, n. 6, p. 565–573, 1 dez. 2019.

TILOCCA, B.; CAO, A.; MIGHELI, Q. Scent of a Killer: Microbial Volatilome and Its Role in the Biological Control of Plant Pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Doenças fúngicas. Em: BRANDÃO FILHO, J. U. T. et al. (Eds.). **Hortaliças-fruto**. Maringá: EDUEM, 2018. p. 271–313.

ULLOA, J. A. et al. El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. **Revista Fuente**, v. 3, n. 8, 2011.

VANEGAS, A. M. M.; PAVAS, D. A. M.; OSORNO, J. C. Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. **Actualidades Biológicas**, v. 41, n. 111, p. 1–13, 2019.

VINALE, F. et al. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1–10, 2008.

WOO, S. L. et al. *Trichoderma*-based Products and their Widespread Use in Agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, 2014.

XIE, L. et al. Harzianic Acid from *Trichoderma afroharzianum* Is a Natural Product Inhibitor of Acetohydroxyacid Synthase. **Journal of the American Chemical Society**, v. 143, n. 25, p. 9575–9584, 2021.

YILMAZ, N. et al. Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex. **Persoonia**, v. 46, p. 129–162, 2021.

ZHANG, Y. et al. Fusarium elaeidis Causes Stem and Root Rot on *Alocasia longiloba* in South China. **Pathogens**, v. 10, n. 11, p. 1395, nov. 2021.

ZIN, N. A.; BADALUDDIN, N. A. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, n. 2, p. 168–178, 2020.