

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

JEFERSON CARLOS CARVALHO

**MANEJO DO CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM DO FEIJOEIRO POR
Rhodotorula Glutinis E *Sporidiobolus johnsonii***

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2017

JEFERSON CARLOS CARVALHO

**MANEJO DO CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM DO FEIJOEIRO POR
Rhodotorula Glutinis E *Sporidiobolus johnsonii***

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Odair José Kuhn

Coorientadores: José Renato Stangarlin

Clair Aparecida Viecelli

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca da UNIOESTE – Campus de Marechal Cândido Rondon – PR., Brasil)

C331m Carvalho, Jeferson Carlos
Manejo do cretamento bacteriano comum do feijoeiro por *Rhodotorula Glutinis* e *Sporidiobolus johnsonii* / Jeferson Carlos Carvalho. – Marechal Cândido Rondon, 2017.
ix, 39 f.

Orientador: Dr. Odair José Kuhn
Coorientador: Dr. José Renato Stangarlin
Dr^a Clair Aparecida Viecelli

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2017.

1. Feijão comum. 2. Feijão – Doenças e pragas. 3. Pragas agrícolas – Controle biológico. I. Kuhn, Odair José. II. Stangarlin, José Renato. III. Viecelli, Clair Aparecida. IV. Título.

CDD 22.ed. 635.652
CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Marcia Elisa Sbaraini-Leitzke CRB-9/539



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.

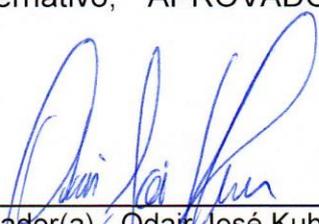


PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

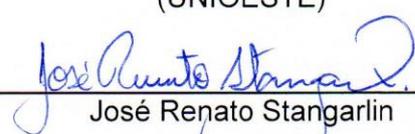
JEFERSON CARLOS CARVALHO

Manejo do crestamento bacteriano comum do feijoeiro por *Rhodotorula glutinis* e *Sporidiobolus johnsonii*

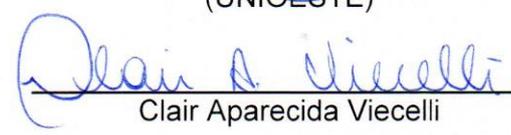
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitossanidade e Controle Alternativo, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:


Orientador(a) - Odair José Kuhn

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon
(UNIOESTE)


José Renato Stangarlin

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon
(UNIOESTE)


Clair Aparecida Viecelli

Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

Marechal Cândido Rondon, 24 de fevereiro de 2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me guiar e iluminar meus passos.

A minha esposa Maria Cristina Carvalho, por me ajudar, apoiar e sempre estar ao meu lado.

Aos meus pais Paulo Roberto Carvalho e Beatriz Scain Carvalho, que sempre me apoiaram, incentivando e ajudando.

Aos meus avós Vergilino Scain (in memoria), Ondina Scain e Ana, que sempre incentivaram nesta caminhada.

Aos meus sogros Arciso Feiten e Ilse Rifel Feiten, por sempre incentivar e apoiar.

Aos meus cunhados Affonso Celso Gonçalves Junior, Rosmarina Feiten Gonçalves e sobrinhas Isabela e Cecilia que sempre ajudaram nesta caminhada.

Ao prof. Dr. Odair José Kuhn, pela valiosa orientação, sempre bem preparado a ajudar, dando conselhos valiosos, pelas correções e incentivo.

Ao prof. Dr. José Renato Stangarlin, por aconselhar, indicar o caminho do conhecimento e aconselhando para melhorar o trabalho.

A profa. Dra. Clair Aparecida Viacelli, por todos os seus ensinamentos, conselhos e incentivo para eu trilhar este caminho.

A todo corpo docente da pós-graduação da Unioeste, por fornecer o conhecimento necessário.

Aos amigos Anderson, Nicanor, Lívia, Eloisa, Danielle e Gustavo, por incentivar e toda a ajuda.

A CAPES pela Concessão da bolsa de estudos.

Muito obrigado...

RESUMO

CARVALHO, Jeferson Carlos, Mestre, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Fevereiro – 2017. **Manejo Do Crestamento Bacteriano Comum Do Feijoeiro Por *Rhodotorula Glutinis* e *Sporidiobolus johnsonii***. Orientador: Odair José Kuhn. Coorientador: José Renato Stangarlin. Coorientador: Clair Aparecida Viecelli.

O crestamento bacteriano comum do feijoeiro reduz a produtividade da cultura e é de difícil controle, podendo ser o controle biológico utilizando leveduras uma alternativa. Objetivou-se avaliar a capacidade de *Rhodotorula Glutinis* e *Sporidiobolus johnsonii* em reduzir a severidade de crestamento bacteriano comum do feijoeiro, atuar como promotores de crescimento de plantas, bem como a dose e o número de aplicações mais adequadas para o tratamento fitossanitário. A levedura *R. Glutinis* (AH 14-3) foi isolada de flor de roseira e *S. johnsonii* (AH 16-1) de folha de beijinho. Foi realizado quatro experimentos utilizando a cultivar IAPAR Tuiuiú. Dois em casa de vegetação, um para determinar a melhor dose (0; 2,5; 5; 7,5; e 10 g L⁻¹ de *R. glutinis* e *S. johnsonii*, mais acibenzolar-S-metil (ASM) em dose comercial) e outro o nível de aplicações durante o ciclo da cultura (zero, uma, duas e três aplicações de *R. glutinis* e *S. johnsonii* (5 g L⁻¹) e ASM (25 g L⁻¹)). Em ambos experimentos foram avaliados área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e volume de raiz (VR). Outros dois experimentos foram conduzidos em condições de campo semeados em março e outubro, em esquema fatorial 4X3 (zero, uma, duas e três aplicações e três tratamentos *R. glutinis* e *S. johnsonii*, e ASM). Nessas condições foram avaliados AACPD, número de vagens por plantas (NVP), número de grãos por vagens (NGV), massa de mil grãos (MMG) e produtividade. Para doses, o isolado *S. johnsonii* reduziu 59,61% a AACPD de forma dependente da dose atingindo na dose 10 g L⁻¹ valor de 14,61, semelhante ao ASM (14,31). Por outro lado, o isolado *R. glutinis* não interferiu na AACPD. Com a dose de 5 g L⁻¹ as leveduras estimularam o crescimento de plantas. Para o número de aplicações em casa de vegetação, *R. glutinis*, com duas aplicações reduziu o progresso da doença em 62,73%, enquanto

o isolado *S. johnsonii* apresentou efeito linear, com redução de 49,88% com três aplicações, o número de aplicações não interferiu nas variáveis de crescimento. Para os resultados do cultivo de outono-inverno, na AACPD os isolados *R. glutinis* e *S. johnsonii* não apresentaram diferença entre si, sendo de 17,28 e 19,14 respectivamente independentemente do número de aplicação, mas o ASM apresentou a maior severidade com duas aplicações. Para a produtividade o isolado *R. glutinis* apresentou a maior média com duas aplicações sendo de 1006,44 kg ha⁻¹. Para o cultivo das águas, os isolados *R. glutinis* e *S. johnsonii* reduziram a AACPD em 66,84% e 58,42%, respectivamente com três aplicações. Para produtividade *R. glutinis* e *S. johnsonii* não apresentaram diferença entre o número de aplicações, com médias de 3708,96 e 3896,71 kg ha⁻¹, respectivamente. ASM promoveu aumento linear da produtividade, 4418,56 kg ha⁻¹ com três aplicações. Os resultados indicam que as leveduras *R. glutinis* e *S. johnsonii* reduzem a severidade do crestamento bacteriano comum do feijoeiro, podem atuar como indutores de crescimento de plantas, a melhor dose é 5 g L⁻¹ e o número de aplicações mais adequado são duas.

Palavras-chave: Controle Biológico. Fabaceae. *Phaseolus vulgaris* L. *Xantomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Produção.

ABSTRACT

CARVALHO, Jeferson Carlos, Mestre, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, February - 2017. **Managing Common Bacterial Blight of Beans by using *Rhodotorula Glutinis* and *Sporidiobolus Johnsonii***. Orientador: Odair José Kuhn. Coorientador: José Renato Stangarlin. Coorientador: Clair Aparecida Viecelli.

Common bacterial blight of beans reduces crop yields and is difficult to control. Biological control using yeasts might be an alternative. It was aimed to evaluate the capacity of *Rhodotorula glutinis* and *Sporidiobolus johnsonii* to reduce the severity of common bacterial blight of beans and to act as plant growth stimulator, as well as to determine the appropriate dose and number of applications for phytosanitary treatment. The yeast *R. glutinis* (AH 14-3) was isolated from roses and *S. johnsonii* (AH 16-1) was obtained from touch-me-not leaves (*Impatiens walleriana*). Four experiments were carried out using the cultivar IAPAR Tuiuiu. Two of them were held in a greenhouse, one to determine the best dose (0; 2,5; 5; 7,5; and 10 g L⁻¹ of *R. glutinis* and *S. johnsonii*, along with a commercial dose of acibenzolar-S-methyl (ASM)) and another to determine the level of applications during the cultivation cycle (zero, one, two, and three applications of *R. glutinis* and *S. johnsonii* (5 g L⁻¹) and ASM (25 g L⁻¹)). In both experiments, the area under the disease progress curve (AUDPC), the dry mass of the aerial part (DMAP), the dry mass of root (DMR) and root volume (RV) were evaluated. The other two experiments were carried out under seeded-field conditions in March and in October, with a 4X3 factorial arrangement (zero, one, two and three applications and three *R. glutinis*, *S. johnsonii* and ASM treatments). Under these conditions, were evaluated AUDPC, number of pods per plant (NPP), number of seeds per pod (NSP), one thousand seed mass (TSM) and yield. For doses, the isolate of *S. johnsonii* reduced the AUDPC by 59,61% on a dose-dependent basis, reaching the value of 14,61 at a dose of 10 g L⁻¹, similar to ASM (14,31). On the other hand, the isolate of *R. glutinis* did not affect the AUDPC. The yeasts stimulated plant growth at a dose of 5 g L⁻¹. Regarding the number of applications in a greenhouse, *R. glutinis* reduced the progress of the disease by 62,73% after two applications, whereas the isolate *S. johnsonii* presented a linear effect, with a reduction of 49,88% after three applications, and the number of applications did not interfere in growth variables. Concerning the results of autumn-

winter cultivation, in the AUDPC the isolates *R. Glutinis* and *S. johnsonii* did not present any difference between them, 17,28 and 19,14, respectively, independently of the number of applications, however ASM showed the greatest severity with two applications. For productivity, the isolate *R. glutinis* showed the highest average, 1006,44 kg ha⁻¹, with two applications. For cultivation in water, the isolates *R. glutinis* and *S. johnsonii* reduced the AUDPC by 66,84% and 58,42%, respectively, with three applications. For productivity, *R. glutinis* and *S. johnsonii* did not present any difference between the number of applications, with averages of 3708,96 and 3896,71, respectively. ASM caused a linear increase in production, 4418,56 kg ha⁻¹ after three applications. Results reveal that yeasts *R. glutinis* and *S. johnsonii* reduce the severity of common bacterial blight of beans and have the ability to stimulate plant growth. The best dose is 5 g L⁻¹ and it is more effective with two applications.

Keywords: Biological control. Fabaceae. *Phaseolus vulgaris* L. *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*. Production.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) (A), Massa Seca de Parte Aérea (B), Massa Seca de Raiz (C) e Volume de Raiz (D) em função da aplicação de diferentes doses de levedura *Rhodotorula glutinis* (♦), *Sporidiobolus johnsonii* (■) em comparação ao tratamento com Acibenzolar-S-metil - ASM (—) e dose para os dois isolados (●) em condições de cultivo protegido. Barras indicam a média ± o erro padrão 19
- Figura 2.** Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), em função da aplicação de levedura *Rhodotorula glutinis* - 5 g L⁻¹(♦), *Sporidiobolus johnsonii* - 5 g L⁻¹ (■) e Acibenzolar-S-metil (ASM) 25 g L⁻¹ (▲) em 0, 1, 2 ou 3 aplicações, quinzenalmente em condições de campo. Barras indicam a média ± o erro padrão 22
- Figura 3.** Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) (A), Vagens por plantas (B), grãos por vagens (C), massa de mil grãos (D) e produtividade (E), em função da aplicação de levedura *Rhodotorula glutinis* - 5 g L⁻¹(♦), *Sporidiobolus johnsonii* - 5 g L⁻¹ (■) e Acibenzolar-S-metil (ASM) 25 g L⁻¹ (▲) em 0, 1, 2 ou 3 aplicações, quinzenalmente em condições de campo na safra de outono-inverno. Barras indicam a média ± o erro padrão 24
- Figura 4.** Dados meteorológicos indicando período de condução do experimento no cultivo da seca com temperatura máxima (T. Máxima, °C), temperatura mínima (T. Mínima, °C) e precipitação pluvial (mm) 26
- Figura 5.** Área abaixo da curva do progresso da doença - AACPD (A), Vagens por plantas (B), grãos por vagens (C), massa de mil grãos (D) e produtividade (E), em função da aplicação de levedura *Rhodotorula glutinis* - 5 g L⁻¹(♦), *Sporidiobolus johnsonii* - 5 g L⁻¹ (■) e Acibenzolar-S-metil (ASM) 25 g L⁻¹ (▲) em 0, 1, 2 ou 3 aplicações, quinzenalmente em condições de campo na safra das águas. Barras indicam a média ± o erro padrão 29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise de solo para experimento em casa de vegetação para matéria orgânica (MO), fósforo (P) hidrogênio + alumínio (H+Al) potássio (K ⁺), cálcio (Ca ²⁺), magnésio (Mg ²⁺), capacidade de troca de cátions (CTC), alumínio (Al ³⁺), saturação por bases (SB), percentagem de saturação por bases (V), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e ferro (Fe)	15
Tabela 2. Volume de Raiz (VR), Massa Seca de Raiz (MSR) e Massa seca de parte Aérea (MSPA) em função da aplicação de levedura <i>Rhodotorula glutinis</i> - 5 g L ⁻¹ , <i>Sporidiobolus johnsonii</i> - 5 g L ⁻¹ e Acibenzolar-S-metil (ASM) 25 g L ⁻¹ em 0, 1, 2 ou 3 aplicações, quinzenalmente, em condições de casa de vegetação	23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	CULTURA DO FEIJOEIRO	3
2.2	DOENÇAS DO FEIJOEIRO	4
2.3	MÉTODOS DE CONTROLE DE DOENÇA.....	5
2.4	CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS	6
2.5	INDUÇÃO E RESISTÊNCIA	7
2.6	PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO	9
2.7	LEVEDURAS	9
2.7.1	<i>Rhodotorula glutinis</i>	11
2.7.2	<i>Sporidiobolus johnsonii</i>	12
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1	OBTENÇÃO, MANUTENÇÃO E PREPARO DE SUSPENSÃO DE LEVEDURAS.....	14
3.2	OBTENÇÃO, MANUTENÇÃO E PREPARO DE SUSPENSÃO DO PATÓGENO	14
3.3	EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.....	14
3.3.1	Variáveis analisadas em casa de vegetação	16
3.4	EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES DE CAMPO	16
3.4.1	Análise de severidade e variáveis agronômicas a campo	17
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	17
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4.1	EFEITO DE DOSES DE LEVEDURAS EM APLICAÇÃO FOLIAR	18
4.2	EFEITO DO NÚMERO DE APLICAÇÕES FOLIARES NO FEIJOEIRO	21
4.3	APLICAÇÃO FOLIAR DE LEVEDURAS EM FEIJOEIRO NO CULTIVO DE OUTONO-INVERNO	23
4.4	APLICAÇÃO FOLIAR DE LEVEDURAS EM FEIJOEIRO NO CULTIVO DAS ÁGUAS	28
5	CONCLUSÕES.....	32
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

O crestamento bacteriano comum é uma das principais doenças da cultura do feijoeiro, pois está presente em todas as regiões produtoras, reduzindo a produtividade e afetando a qualidade de sementes, que por sua vez é a principal fonte de inóculo (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007; WENDLAND et al. 2016)).

As condições climáticas que favorecem o seu desenvolvimento são de alta umidade e temperatura variando entre 28 a 30 °C. Seu agente causal é a bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. A doença apresenta sintomas de leões necróticas, com halos amarelo e encharcado nas folhas, além de lesões de formato alongado, encharcadas e avermelhadas no caule e nas vagens (TORRES; MARINGONI, 2010).

Para seu controle utiliza-se o manejo integrado de doenças (MID), com vários métodos que visam produzir um ambiente desfavorável ao patógeno, como utilizar sementes sadias (TORRES; MARINGONI, 2010), cultivares resistentes, indução de resistência por ASM (MAPA, 2017), prevenção com cúpricos (WENDLAND et al., 2016) e o controle biológico de doenças (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007).

O controle biológico de doenças consiste da utilização de microrganismos antagonistas com grande adaptabilidade, que competem de alguma forma com os patógenos (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007). Além destes há outros mecanismos como antibiose que é a capacidade de um microrganismo inibir o crescimento de outro, competição através da interação entre os microrganismos com o ambiente, alterando-o para beneficiar-se (ROMEIRO, 2007) e parasitismo em que se tem a produção de enzimas para o ataque, resultando na morte de um dos envolvidos.

Além disso, o controle pode ocorrer através da indução de resistência da planta ao patógeno (LORITO et al., 2010), ou promoção de crescimento induzindo a produção hormônios, disponibilizando nutrientes e/ou troca de metabolitos entre o microrganismo e a planta (MACHADO et al., 2011; KHAN et al., 2012). Normalmente estes mecanismos são apresentados por leveduras.

Pesquisas utilizando leveduras veem demonstrando resultados promissores como é o caso das pesquisas realizadas por Hoffmann et al. (2012) que usaram

Saccharomyces cerevisiae e *S. boulardii* no controle de crestamento bacteriano comum do feijoeiro e observaram redução da severidade e incremento da produção.

A espécie de levedura *Rhodotorula glutinis* apresenta grande potencial na agroindústria, por sintetizar lipídios, carotenoides e enzimas, que são utilizados nas áreas farmacêutica, cosmética e alimentar (HERNÁNDEZ-ALMANZA et al., 2013).

R. glutinis se apresenta como agente redutor da micotoxina patulina sintetizada por *Penicillium expansum* em maçã e reduz a infecção por este patógeno (CASTORIA et al., 2005). Além de compostos carotenoides o gênero *Rhodotorula* sintetiza ficocianina e compostos antimicrobianos (EL-SHEEKH et al., 2010).

Outra espécie de levedura o *Sporidiobolus johnsonii* é citada na literatura como capaz de produzir a coenzima Q10 (RANADIVE; MEHTA; GEORGE, 2011), que possui função importante no transporte de elétrons na respiração aeróbica oxidativa (CHOI; RYU; SEO, 2005).

As leveduras podem apresentar um grande potencial no controle de doenças como o crestamento bacteriano comum do feijoeiro. Heling et al. (2016) observaram que as leveduras *R. glutinis* e *S. johnsonii* reduziram a severidade da doença em 53,70% e 50,83% respectivamente, assim demonstrando o potencial destas leveduras.

A presente pesquisa teve como objetivo avaliar a capacidade das leveduras *R. glutinis* e *S. Johnsonii* em reduzir a severidade de crestamento bacteriano comum do feijoeiro, atuar como promotoras de crescimento, bem como a melhor dose e o número de aplicações mais adequado para o manejo dessa doença.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CULTURA DO FEIJOEIRO

A cultura possui grande importância socioeconômica no Brasil, pois é o alimento base da população, por ser fonte de proteína, carboidratos e ferro, além de ser cultivado em todo o país em três safras distintas (BORÉM; CARNEIRO, 2015).

As épocas de semeadura da cultura do feijoeiro são definidas de acordo com fatores climáticos favoráveis para o desenvolvimento da cultura, tipo de solo e ciclo de cultivares, para que se obtenha os maiores índices de produtividade. Deste modo no Paraná se tem a semeadura de feijão de primeira época (ou época das “águas”) que ocorre de Julho a Novembro, segunda época (ou época da “seca”) de Dezembro a Janeiro e terceira época (ou época de outono-inverno) de Fevereiro a Abril (CTSBF, 2012).

A estimativa de produção brasileira de feijão nas três safras para 2016/2017 é de 3,12 milhões de toneladas e uma área de 2,980 milhões de ha⁻¹ obtendo uma média produtiva de 1048 kg ha⁻¹. Desta produção estima-se que 939,9 mil toneladas vão ser produzidas na região sul, em uma área de 543,9 mil ha⁻¹, com 1728 kg ha⁻¹ de produtividade média, desta produção da região Sul, 688,7 mil toneladas são produzidas no Paraná em 400,4 mil ha⁻¹, com produtividade média de 1720 kg ha⁻¹ (CONAB, 2017).

A cultura é exigente em condições climáticas para o seu desenvolvimento (PEREIRA et al., 2014), necessitando de temperaturas entre 15 a 29 °C, alta luminosidade e de 300 a 500 mm pluviométricos bem distribuídos durante o ciclo da cultura (DOURADO NETO; FANCELLI, 2000; FANCELLI; DOURADO NETO, 2007; ANDRADE et al., 2015).

Seu ciclo é dividido em duas fases, a vegetativa, que se inicia na germinação (estádio V0) e se estende até a formação da primeira flor (estádio R5) e a reprodutiva, iniciando com a formação da primeira flor (estádio R5), finalizando com a senescência (estádio R9) (SANTOS et al., 2015).

A planta de feijoeiro apresenta raiz pivotante, possui uma haste principal herbácea e é constituída de nós e entrenós. Apresenta três tipos de folhas, as primeiras folhas emitidas após a emergência são as cotilédones, em seguida

ocorre a emissão do par de folhas simples e após ocorre apenas a emissão de folhas trifolioladas. As flores aparecem em axilas pedunculares, na coloração branca, amarela, vermelha ou púrpura. As vagens são do tipo legume, longas, com lados convexos e abrigando geralmente de 1 a 8 sementes por vagem (NASSAR; AHMED; BOGHADY, 2010).

Para atingir altos índices de produção, além de se conhecer o ciclo, a botânica da cultura e condições climáticas ideais, deve-se atentar ao manejo de doenças, que contribui para a redução da produção da cultura. Como o cultivo do feijoeiro se dá em três safras, a produção de inóculo de patógenos ocorre constantemente, pois não se interrompe o ciclo do patógeno. Segundo Torres e Maringoni (2010) as doenças podem acarretar decréscimo na produção, além de produção de micotoxinas e redução de qualidade das sementes.

2.2 DOENÇAS DO FEIJOEIRO

Uma das principais causas de redução da produção do feijão são as doenças que em condições favoráveis pode reduzir drasticamente a produtividade e o manejo de controle demanda um alto custo de produção (PAULA JÚNIOR; ZAMBOLIM, 2006). O cultivo do feijoeiro pode ocorrer durante todo ano no país, não sendo interrompido o ciclo do patógeno, favorecendo a manutenção do inóculo no ambiente. Assim, é necessário o uso de diferentes técnicas de controle, de modo que possa se fazer um cultivo sustentável.

O ambiente é o fator que varia no decorrer do ciclo da cultura, influência de forma direta sobre o hospedeiro e o patógeno, podendo interferir na ocorrência, severidade e disseminação do patógeno. Fatores como umidade e temperatura muitas vezes favorável para a cultura, também são favoráveis para o patógeno (BEDENDO; AMORIM, 2011).

As principais doenças que ocorrem no feijoeiro no Paraná são de natureza fúngica, como a antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), ferrugem (*Uromyces appendiculatus*), oídio (*Erysiphe polygoni*), mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), além de doenças causadas por vírus como o mosaico dourado do feijoeiro (*Bean golden mosaic virus*, BGMV), mosaico comum (*Bean common mosaic virus*, BCMV) e doenças causadas por bactérias, como o crestamento bacteriano comum (*Xantomonas axonopodis* pv. *phaseoli*). Estas doenças podem reduzir drasticamente

a produção da cultura se não manejadas de forma correta (WENDLAND et al., 2016).

O crestamento bacteriano comum do feijoeiro é a principal doença bacteriana da cultura, ocorre em todas as regiões produtoras, ocasionando redução na produtividade e qualidade das sementes, além de produzir inóculo para sua disseminação, já que a principal fonte de inóculo primário é a semente (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007).

Essa doença bacteriana é favorecida por condições de alta umidade e temperatura (28 a 30 °C), tem sido problema em todas as regiões produtoras brasileiras. É causada pelo patógeno *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Seus sintomas são leões necróticas, com halo amarelo e halo encharcado nas folhas. Em caso de alta severidade observam-se sintomas no caule e nas vagens, com lesões de formato alongado e encharcadas, que posteriormente passam a ser avermelhadas. As sementes infectadas apresentam aspecto enrugado, manchas amareladas no tegumento, má formação ou podem não apresentar sintomas. O seu controle se dá principalmente pelo uso de sementes sadias haja vista que é o seu inóculo primário de disseminação da doença (TORRES; MARINGONI, 2010).

2.3 MÉTODOS DE CONTROLE DE DOENÇA

Na cultura do feijoeiro se pode utilizar diversos métodos de controle de doenças, sendo o agrupamento destes denominado de Manejo Integrado de Doenças (MID). Este tem o objetivo de reduzir o inóculo e produzir um ambiente desfavorável para o patógeno (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007), dentre estes métodos pode-se citar a utilização de sementes sadias (TORRES; MARINGONI, 2010), cultivares resistentes, indução de resistência utilizando o ASM (MAPA, 2017), prevenção com cúpricos (WENDLAND et al. 2016) e o controle biológico de doenças (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007).

Vida et al. (2004), trabalhando com o manejo de doenças de plantas em cultivo protegido, direciona o controle de doenças, utilizando o triangulo da doença, considerando a interação planta patógeno, focando no inóculo inicial e utilizando o manejo integrado de controle de doenças.

Dentre os métodos de controle de doenças o mais utilizado é o controle químico, porém, para o controle do crestamento bacteriano comum do feijoeiro se

tem apenas dois princípios ativos registrados segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2017), o acibenzolar-S-metil e o hidróxido de cobre. Wendland et al. (2016) recomendam a aplicação de cúpricos como preventivo para esta doença.

Aualmente o Brasil é o país que mais utiliza agrotóxicos no mundo, apresentando sérios riscos para a saúde e para o meio ambiente, acarretando em problemas agudos ou crônicos, principalmente para a classe dos agricultores, que estão em contato direto com o agrotóxico quando realizam aplicações, além de contaminar o ambiente em que se está inserido, muitas vezes por aplicações inadequadas (CASSAL et al., 2014).

Buscam-se alternativas para reduzir o uso de produtos químicos, para reduzir os impactos ao meio ambiente, produzir de forma sustentável e benéfica à saúde humana. Sendo assim, os métodos de controle alternativo reduzem a incidência e severidade de microrganismos patogênicos, permitindo a manutenção da qualidade e produtividade das culturas e microrganismos benéficos (BEDENDO et al., 2011).

Como uma alternativa de controle, Barretti et al. (2010) observaram que o acibenzolar-S-metil (ASM) reduziu a severidade da murcha bacteriana do tomateiro, sendo este um bom indicativo para o manejo de doenças bacterianas, já que não se tem produtos específicos para este fim.

Quando se fala em fungicidas cúpricos para o controle de cretamento bacteriano comum do feijoeiro se observa algum efeito de proteção com baixa eficiência. Para resolver este problema da falta de opção de produtos no controle de bactérias fitopatogênicas, o controle biológico se mostra promissor, pois pode vir a ser uma alternativa importante para o manejo de doenças, mas que necessita de mais pesquisas. Já se encontra na literatura o uso do controle biológico para diversos fins, como controle de doenças (BETTIOL; MORANDI, 2009; LOBO JÚNIOR; GERALDINE; CARVALHO, 2009).

2.4 CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS

O controle biológico de doenças ocorre pelo emprego de microrganismos antagonistas com grande adaptabilidade (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007). A

utilização de microrganismos benéficos que competem de alguma forma com os agentes causadores de doenças de plantas.

No decorrer dos últimos anos, foi disponibilizado no mercado produtos a base de *Trichoderma* registrados para o controle de *Rhizoctonia* e *Fusarium* (MAPA, 2017). Várias empresas como Bayer, Embrapa e Basf, além de instituições de ensino, estão investindo os esforços nesta área para descobrir, produzir e inserir no mercado novos produtos, mostrando a grande evolução tanto das pesquisas quanto dos resultados obtidos nesta linha.

Os produtos biológicos são utilizados principalmente como inoculante em semente, mas podem ser também aplicados em raízes, covas, sulcos de semeadura, parte aérea de plantas, normalmente diluído em água, podendo ser aplicado como um produto preventivo (ROMEIRO, 2005; LOBO JÚNIOR; GERALDINE; CARVALHO, 2009). O controle ocorre normalmente por indução de resistência e interação entre agente de controle e patógenos.

2.5 INDUÇÃO E RESISTÊNCIA

Na indução de resistência a planta é induzida pelo microrganismo benéfico a produzir defesas contra outros microrganismos, em que podem ocorrer mudanças morfológicas na planta, produção de enzimas e proteínas entre outros componentes de defesa da mesma (LORITO et al., 2010).

Sabe-se que as plantas evoluíram suas defesas para dificultar ou impedir a entrada e estabelecimento dos microrganismos, sendo estas defesas pré ou pós formadas (ANIL; NARAYAN DAS; PODILE, 2014).

As defesas Pré-formadas (passivas ou constitutivas) são constituintes estruturais da planta (cutícula, tricomas, estômatos e fibras), ou bioquímicos os quais são substâncias que atuam na defesa (fenóis, alcaloides glicosídicos, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos e cianogênicos, inibidores proteicos, fototoxinas, quitinases e β -1,3-glucanases). Outros mecanismos são pós-formados (ativos ou induzíveis), estruturais, a planta produz após o ataque do patógeno (papilas, halos, lignificação, glicoproteínas ricas em aminoácidos hidroxiprolina e glicina, camada de cortiça, camada de abscisão e tiloses) e bioquímicos, compostos químicos produzidos após a infecção (fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese, espécies ativas de oxigênio e fototoxinas) (PASCHOLATI, 2011).

Dentre os compostos químicos de defesa os fenóis são extenso grupo que possuem anel aromático com pelo menos uma hidroxila, são produzidos na via dos fenilpropanoides, normalmente solúveis em água e encontrados no vacúolo das plantas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008). Estas substâncias são antibacterianas, fungitóxicas e antiviral, que agem no microrganismo, inibindo a germinação de esporos, crescimento do micelio ou produção e atividade de enzimas (LO; NICHOLSON; TREMACOLDI, 2008).

Por outro lado, enzimas que atuam como defesas bioquímicas também desempenham papel importante no processo, das quais destacam-se as enzimas que apresentam atividade de peroxidases e quitinases. As peroxidases estão presente nos tecidos das plantas, participam em vários processos fisiológicos, como oxidação de compostos fenólicos (HOAGLAND, 1990), biossíntese de lignina entre outros e a mesma tem sido correlacionada a resistência e suscetibilidade das plantas (STANGARLIN et al., 2011).

A quitinase tem atividade de lizozima, que pode hidrolisar ligações β -1,4 entre o ácido N-acetilmurâmico e N-acetilglucosamina no peptideoglicano bacteriano, também pode atuar como quitosanases, sendo eficiente na hidrólise da quitina que é componente de vários patógenos (PONSTEIN et al., 1994).

Quando os mecanismos de defesa pós-formados ou induzíveis são ativados em uma planta, entende-se que esta tem sua resistência induzida. A indução de resistência pode ocorrer por várias vias, porém as duas mais estudadas são resistência sistêmica adquirida (RSA) e resistência sistêmica induzida (RSI). A resistência sistêmica adquirida (RSA) é provocada por sinais liberados através de um sitio de infecção, que provoca necrose do tecido, essa indução é mediada por ácido salicílico, induzindo a planta a expressar mecanismos de defesa prevenindo o avanço da infecção. Já a resistência sistêmica induzida (RSI) é provocada principalmente pela interação com microrganismos ou insetos, os quais não causam sintomas necróticos nos tecidos da planta e é mediada por ácido jasmônico (SILVA et al., 2008; GLAZEBROOK, 2005).

A indução de resistência ocorre em resposta a ativação de rotas metabólicas de sinalização após o reconhecimento de ataque do patógeno, indução de um microrganismo saprófita ou agente abiótico, assim as rotas ativadas são as rotas do ácido salicílico, ácido jasmônico e o etileno (GLAZEBROOK, 2005).

2.6 PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO

A promoção de crescimento de plantas pode ser induzida por diversos microrganismos como rizóbio, *Trichoderma*, bactérias e leveduras, microrganismos saprófitas, podem atuar como promotores de crescimento, interagindo com as plantas e induzindo principalmente a produção hormônios como o ácido indol acético. Também podem disponibilizar de alguns nutrientes e/ou troca de metabolitos com a planta, alterando assim no desenvolvimento das plantas (MACHADO et al., 2011; KHAN et al., 2012).

Os rizobios são os microrganismos mais importantes da classe dos microrganismos promotores de crescimento, principalmente pela sua capacidade de fixação biológica de nitrogênio, mas também por induzir a produção de reguladores de crescimento e solubilização do fósforo entre outros (HERNÁNDEZ, 2015).

O *Trichoderma* possui a capacidade de interação com as plantas, assim promovendo o crescimento destas por mecanismos de indução da produção de reguladores de crescimento, decomposição de resíduos vegetais e inibição do desenvolvimento de patógenos (SHANMUGAIAH et al., 2009).

Sun et al. (2014), trabalhando com 12 linhagens de leveduras isoladas *Drosera indica* L. (planta carnívora), revelam que todos os isolados produziram o regulador de crescimento ácido indol-3-acético (AIA), assim indicando que leveduras podem atuar promovendo o crescimento de plantas.

2.7 LEVEDURAS

As leveduras são fungos unicelulares, com formato oval ou esférico, diâmetro de 2 a 10 μm . A colônia possui aspecto úmido ceroso e pastoso, sua reprodução é assexuada, por brotamento ou cissiparidade. São classificadas como Ascomycetos (KREGER-VAN RIJ, 1984) e também as leveduras que apresentam blastósporos, resultado do processo de brotação para formar uma nova célula de levedura, são classificadas como Basidiomycota (FLEET, 2011; TRUJILLO, 2012).

As leveduras podem ser encontradas na microbiota epifítica, endofítica e solo (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2000). Normalmente e preferencialmente a utilização no controle biológico é de forma preventiva, já que seu principal modo de

controle é na forma de competição, consumindo nutrientes disponíveis no filopiano das folhas, assim reduzindo as condições favoráveis para o desenvolvimento de outros microrganismos causadores de doenças.

Para que ocorra o controle ou redução de severidade da doença, as leveduras apresentam os mecanismos de antibiose, competição, parasitismo e indução de resistência.

Antibiose é a ação de um microrganismo através da produção de compostos voláteis e/ou não voláteis, sobre outro e tem a capacidade de inibir o seu crescimento (DIAS, 2011), sendo pela promoção da desorganização celular, inibir o crescimento de hifas, e lise de hifas (AHMED et al., 2003).

A competição é a interação das leveduras com os demais microrganismos no ambiente em que estão inseridos, alterando do microambiente em que vivem, alterando a disponibilidade de nutrientes disponíveis, pH, temperatura, água, entre outros elementos que se encontram no microambiente em que estes microrganismos vivem. Tudo interfere no desenvolvimento de patógenos e agentes benéficos, resultando em competição entre os mesmos para suprir suas necessidades para que possam sobreviver (ROMEIRO, 2007).

O parasitismo ocorre através da interação íntima entre os microrganismos, que se dá pelo ataque mútuo entre os microrganismos e produção de enzimas para o ataque, resultando na morte de um dos envolvidos (DIAS, 2011).

Leveduras podem induzir resistência em plantas (ZANARDO; PASCHOLATI; FIALHO, 2009). Deste modo se observa o grande e promissor potencial da utilização de leveduras no controle de doenças.

Hoffmann et al. (2012), utilizando *Saccharomyces cerevisiae* e *S. boulardii* para o controle de crescimento bacteriano comum do feijoeiro (*X. anoxopodis* pv. *phaseoli*), observaram que as menores médias de severidade da doença ocorreram quando aplicado as leveduras sendo a severidade de 15% na cultivar IPR 139 em que a testemunha apresentou 25% de severidade e 12% na IAPAR 81 e neste caso a testemunha apresentou 20% de severidade, além de observarem incremento na produtividade de 500 kg ha⁻¹ para até 900 kg ha⁻¹ quando utilizado levedura na cultivas IPR 139 e de 800 kg ha⁻¹ para 1000 kg ha⁻¹ na cultivar IAPAR 81.

Zanardo, Pascholati e Fialho (2009) utilizaram células de *S. cerevisiae* e sobrenadante autoclavado e moléculas eliciadoras para indução de resistência de plântulas de pepino contra a antracnose causada por *Colletotrichum lagenarium*, e

observaram que houve maior acúmulo de fitoalexinas, assim a levedura induziu a resistência nas plantas. Ainda os autores sugerem que as moléculas eliciadoras desta levedura são possivelmente termoestáveis.

Já Shalaby e El-Nady (2008), trabalhando com *S. cerevisiae* em beterraba, observaram que esta atuou como promotor de crescimento e também como agente de controle de *Fusarium oxysporum*, demonstrando os benefícios que este controle biológico tem sobre as plantas, atuando de outra forma não apenas na redução de doenças.

O controle de doenças utilizando leveduras é de amplo espectro e pode ser utilizado em diversas culturas, reduzindo severidade de doença. Visando a sua utilização para o melhor manejo de doenças, pode-se utilizar em culturas que não tenham produtos para esta finalidade registrados, também combinada com fungicidas tradicionais para o melhor controle e para reduzir a ocorrência de resistência a fungicidas (PICCININ; DI PIERO; PASCHOLATI, 2005).

2.7.1 *Rhodotorula glutinis*

Rhodotorula glutinis é uma levedura classificada como pertencente ao filo Basidiomycota (FLEET, 2011; TRUJILLO, 2012), Subfilo Pucciniomycotina, classe Microbotryomycetes, ordem Sporidiales, família Sporidiobolaceae e gênero *Rhodotorula* (BOEKHOUT et al., 2011), possui reprodução anamorfa, seus blastoconídios medem de 2 a 4 µm de diâmetro, a coloração da colônia varia de rosa a vermelho, com aspecto creme e lisa e ligeiramente acuminada (FLEET, 2011; TRUJILLO, 2012).

R. glutinis possui grande potencial na agroindústria, pois registros na literatura mostram seu uso para a síntese biológica de lipídios, carotenoides e enzimas, os quais podem ser utilizados na área farmacêutica, cosmética e alimentar, elevando a qualidade do produto e reduzindo os custos (HERNÁNDEZ-ALMANZA et al., 2013). Os compostos carotenoides, são utilizados como corante natural com potencial de uso na agroindústria (YADAV, et al., 2014), e composto com potencial antimicrobiano (EL-SHEEKH et al., 2010).

Na área de alimentos, essa levedura já foi testada para a redução de micotoxina patulina sintetizada por *Penicillium expansum* em maçã, indicando que *R. glutinis* pode metabolizar e/ou afetar negativamente o acúmulo ou síntese desta

micotoxina, além de reduzir a infecção de maçãs por este patógeno (CASTORIA et al., 2005).

O potencial antimicrobiano de carotenoides foi provado por El-Sheekh et al. (2010), que adicionaram como suplemento alimentar para ratos estes compostos extraídos de *R. glutinis*. Os ratos alimentados com a adição de carotenoides sobreviveram durante duas semanas após a infecção com *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, demonstrando o grande potencial deste composto antimicrobiano produzido pela levedura.

Em pesquisa realizada por Heling et al. (2016) utilizando *R. glutinis* para o controle de cretamento bacteriano comum do feijoeiro (*X. axonopodis* pv. *phaseoli*), o isolado de levedura *R. glutinis* (AH 14-3) reduziu em 53,70% a severidade da doença, demonstrando o seu potencial para o controle de doenças de plantas.

Em outro caso Zhang et al. (2008), trabalhando com *R. glutinis* para o controle de *Botrytis cinerea* em pós colheita nos frutos de pêssago, relataram que com a utilização da levedura reduziu em até 69,3% a germinação de esporos do patógeno. Os autores ainda constataram que a combinação de *R. glutinis* com o ASM, apresentou incidência de 16,67%, valor consideravelmente menos se comparado com o controle que apresentou 46,67% de incidência, demonstrando o potencial antagônico da levedura.

2.7.2 *Sporidiobolus johnsonii*

A espécie *Sporidiobolus johnsonii* pertence ao filo Basidiomycota (FLEET, 2011; TRUJILLO, 2012), Subfilo Pucciniomycotina, classe Microbotryomycetes (BOEKHOUT et al., 2011), ordem Sporodiales, família Sporidiobolaceae (FLEET, 2011; TRUJILLO, 2012) e ao gênero *Sporidiobolus* (BOEKHOUT et al., 2011).

Possui reprodução teleomorfa (BOEKHOUT et al., 2011), células com 8,44 µm de comprimento, 3,05 µm de largura, esféricas, ovais, cilíndricas ou alongadas (KREGGER-VAN RIJ, 1984). As colônias de *S. johnsonii* apresentam coloração vermelha (FELL et al., 2000).

Esta levedura é capaz de produzir a coenzima Q10 (RANADIVE; MEHTA; GEORGE, 2011). Esta coenzima tem função importante na cadeia de transporte de elétrons em respiração aeróbica oxidativa, localizada na membrana da mitocôndria

em eucariotos (CHOI; RYU; SEO, 2005). Assim está levedura tem o potencial elevar a produção de energia na planta, com a produção da coenzima Q10.

San Romão (2009) relata o desenvolvimento de *S. johsonii* em cortiça de *Quercus suber* (sobreiro), indicando que esta levedura é um potencial competidor residente no filoplano de plantas, local em que ocorre uma intensa competição entre microrganismos na colonização da cortiça, para estabelecer o equilíbrio entre as populações. Sendo este um mecanismo do controle biológico.

S. johsonii (AH 16-1) já foi testada para o manejo de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (crestamento bacteriano comum do feijoeiro), e apresentou redução de 50,83% na severidade da doença, apontando um direcionamento para as pesquisas com esta levedura (HELING et al., 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO, MANUTENÇÃO E PREPARO DE SUSPENSÃO DE LEVEDURAS

As leveduras testadas *R. glutinis* (AH 14-3) e *S. johsonii* (AH 16-1) foram obtidos da coleção de leveduras do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, preservados em tubos de ensaio contendo ágar-GYMP (20 g glicose, 20 g extrato de malte, 5 g extrato de levedura, 2 g fosfato de sódio monobásico e 20 g de ágar), cobertos com óleo mineral estéril e mantidos em geladeira. Foram cultivados em placas de petri contendo meio YEPG sólido para sua manutenção (10 g de extrato de levedura, 20 g de peptona, 20 g de glicose e 10g ágar).

Para produzir a suspensão de células para aplicação foi utilizado meio YEPG líquido (10 g de extrato de levedura, 20 g de peptona, 20 g de glicose, 1000 mL de água) levados para agitação (150 rpm) por sete dias a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, após este período, centrifugou-se em 290g por 5 minutos. Foi descartado sobrenadante, ressuspendido em água e ajustado para 1×10^5 células mL⁻¹ de leveduras em espectrofotômetro na absorvância de 580 nm (HOFFMANN et al., 2012).

3.2 OBTENÇÃO, MANUTENÇÃO E PREPARO DE SUSPENSÃO DO PATÓGENO

Um isolado de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* foi obtido por isolamento indireto de fragmentos de tecido foliar de feijoeiro infectado. Foi mantido em meio nutriente ágar e mantida a 25 °C para crescimento e armazenada pelo método de congelamento a -20 °C. Para inoculação foi preparada uma suspensão bacteriana ajustada para 10^8 UFC mL⁻¹, com auxílio de espectrofotômetro a 580 nm e curva de concentração bacteriana previamente elaborada (GONÇALVES et al., 2007).

3.3 EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO

Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC), realizados na unidade experimental da PUCPR-Campus Toledo coordenadas geográficas latitude 24°43'12' Sul e longitude 53°46'52' Oeste, altitude de 563 m.

Os experimentos foram conduzidos em vasos de 2,8 L com proporção de 2:1 (2 de solo LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico e 1 de areia), previamente esterilizado em autoclave. A correção do solo foi realizada 30 dias antes da semeadura para elevar o V% para 70% e a adubação realizada para a produção de 3000 kg de grãos ha⁻¹ de acordo com análise de solo (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de solo para experimento em casa de vegetação para matéria orgânica (MO), fósforo (P) hidrogênio + alumínio (H+Al) potássio (K⁺), cálcio (Ca²⁺), magnésio (Mg²⁺), capacidade de troca de cátions (CTC), alumínio (Al³⁺), saturação por bases (SB), percentagem de saturação por bases (V), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e ferro (Fe).

pH 0,01 mol L ⁻¹	CaCl ₂ g dm ⁻³	MO g dm ⁻³	P mg dm ⁻³	H+Al —cmolc dm ⁻³ —	K ⁺ —cmolc dm ⁻³ —	Ca ²⁺ dm ⁻³	Mg ²⁺ —cmolc dm ⁻³ —	CTC —cmolc dm ⁻³ —
5,41		19,14	20,35	4,5	0,38	3,09	1,19	9,16
Al ³⁺ —cmolc dm ⁻³ —	SB	V	Al	Cu	Zn	Mn	Fe	
		—%—				mg dm ⁻³		
0,00	4,66	50,87	0,00	20,80	4,50	93,00	26,60	

K, P e micronutrientes (Extrator Mehlich⁻¹).

Foi utilizado a cultivar IAPAR Tuiuiu, com semeadura realizada no dia 07 de março de 2016 utilizando seis sementes por vaso. Após a emergência foi realizado desbaste, deixando apenas duas plantas por vaso.

O primeiro experimento foi realizado para determinar a melhor dose de levedura, conduzido em esquema fatorial 5X2+1, sendo cinco doses (0; 2,5; 5; 7,5 e 10 g L⁻¹ de células de leveduras), dois isolados de leveduras *R. glutinis* e *S. johnsonii*, mais um controle com 25 g ha⁻¹ de acibenzolar-S-metil (ASM), com quatro repetições cada. A aplicação dos tratamentos foi realizada 21 dias após a semeadura (estádio V3), 3 dias após realizado a inoculação do patógeno *X. axonopodis* pv. *phaseoli*.

O segundo experimento foi realizado para determinar o número de aplicações durante o ciclo da cultura, em que se realizou quatro padrões de aplicações, já com a dose de 5 g L⁻¹ determinada pelo primeiro experimento para ambos os isolados *R. glutinis* e *S. johnsonii*. Este experimento foi conduzido em esquema fatorial 3X4, sendo três tratamentos (dois isolados de leveduras *R. glutinis*, *S. johnsonii* 5 g L⁻¹ e ASM 25 g ha⁻¹) e quatro padrões de aplicação, sendo zero, uma, duas ou três aplicações, com quatro repetições cada.

3.3.1 Variáveis analisadas em casa de vegetação

Em casa de vegetação a avaliação de doença foi determinada através da severidade por quantificação de tecido vegetal lesionado através de escala diagramática (DÍAZ et al., 2001), logo após o aparecimento das lesões da doença e repetido a cada 4 dias, para construir a curva de progresso do crestamento bacteriano comum e calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Ao atingir o estágio R5 (florescimento) as plantas foram coletadas para a quantificação de massa seca de parte aérea, volume de raiz e massa seca de raiz.

3.4 EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES DE CAMPO

Realizou-se a condução de experimento em condições de campo na unidade experimental da PUCPR-Campus Toledo coordenadas geográficas latitude 24°43'12' Sul e longitude 53°46'52' Oeste, altitude de 563 m, solo LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC), esquema fatorial 3X4, sendo três tratamentos (dois isolados de leveduras *R. glutinis*, *S. johnsonii* 5 g L⁻¹ e ASM 25 g ha⁻¹) e quatro padrões de aplicação, sendo zero, uma, duas ou três aplicações, com quatro repetições cada.

A primeira aplicação foi realizada no estágio V3 e após três dias foi efetuado inoculação de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, realizadas com auxílio de pulverizador costal manual de alavanca, da marca Jacto com capacidade de 20 L, este procedimento foi repetido a cada quinze dias, até completar as três aplicações (segunda aplicação V4 e terceira aplicação R5), realizada ao anoitecer proporcionando molhamento foliar sobre os trifólios de feijão.

O feijoeiro foi semeado no dia 07 de março de 2016 para a condução do primeiro experimento no cultivo de outono-inverno e dia 7 de outubro para condução do segundo experimento no cultivo das águas, semeando-se 10 sementes por metro linear, em sete linhas de 5 m cada e espaçamento de 0,45 m área total de 15,75 m² e área útil de 5,4 m². A correção do solo foi realizada 30 dias antes da semeadura para elevar o V% para 70% e adubação realizada para a produção de 3000 kg de grãos ha⁻¹ de acordo com análise de solo (683,3 kg ha⁻¹ do formulado 2-18-18 mais adubação de cobertura de 74,96 kg ha⁻¹ de uréia (em V4)).

3.4.1 Análise de severidade e variáveis agrônômicas a campo

Foi realizada a avaliação da severidade da doença nas partes superior e inferior do feijoeiro, com o auxílio de escala diagramática (DIAZ et al., 2001), logo após o aparecimento dos primeiros sintomas da doença na cultura, sendo repetido a cada quatro dias, para construir a curva de progresso do crestamento bacteriano comum e calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

Após a colheita foram avaliadas as variáveis agrônômicas: número de vagens por planta (através da contagem de vagens de 10 plantas coletadas aleatoriamente de cada parcela), número de grãos por vagem (contagem de grãos das vagens de 10 plantas coletadas aleatoriamente de cada parcela), massa de mil grãos e produtividade em kg ha⁻¹.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância com auxílio do programa GENES (CRUZ, 2013), sendo realizado teste de Tukey entre os tratamentos e análise de regressão a 5% de probabilidade para as doses dos tratamentos e para número de aplicações.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EFEITO DE DOSES DE LEVEDURAS EM APLICAÇÃO FOLIAR

No experimento em casa de vegetação para avaliação da dose mais adequada para cada levedura observou-se pela análise de variância que para as variáveis área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), massa seca de parte aérea (MSPA) e volume de raiz (VR) a interação apresentou significância ($P < 0,05$).

Sendo assim foi procedido o desdobramento das interações e observou-se que a menor AACPD foi obtida com o ASM (valor de 14,31) e o isolado *S. johnsonii* reduziu o progresso da doença com o aumento da dose, se assemelhando ao ASM na dose de 10 g L⁻¹, o isolado *R. glutinis* não diferiu quanto a dose e apresentou AACPD de 20,13 (Figura 1A).

Para massa seca de parte aérea a aplicação de *S. johnsonii* não foi significativa para doses, por outro lado, a aplicação de *R. glutinis* aumentou a massa seca de parte aérea linearmente com o aumento da dose e o tratamento ASM. Em relação a média dos dois isolados reduziu a massa seca de parte aérea (Figura 1B). Para a variável Massa Seca de Raiz (MSR) não ocorreu interação, indicando significância apenas para dose independente da levedura, que apresentou maior MSR na dose 5,70 g L⁻¹ elevando de 1,07 a 1,40 g de massa seca (Figura 1C).

O volume de raiz é aumentado ajustado a uma regressão quadrática atingindo seu ponto de máximo na dose de 6,55 g L⁻¹ para *S. johnsonii*, enquanto que o tratamento com *R. glutinis* não alterou o volume de raiz e o tratamento ASM reduziu o volume de raiz (Figura 1D).

Ao se analisar a AACPD (Figura 1A), observou-se que nas condições do experimento, *R. glutinis* não interferiu na severidade do crestamento bacteriano comum em nenhuma dosagem, mantendo média de 20,13. Por outro lado, *S. johnsonii* demonstrou efeito de dose com redução linear da AACPD obtendo-se melhor efeito na dosagem de 10 g L⁻¹ onde alcançou valor de 14,61 (diferenças de 59,61% inferior a dose zero), o qual foi semelhante ao controle ASM (14,31).

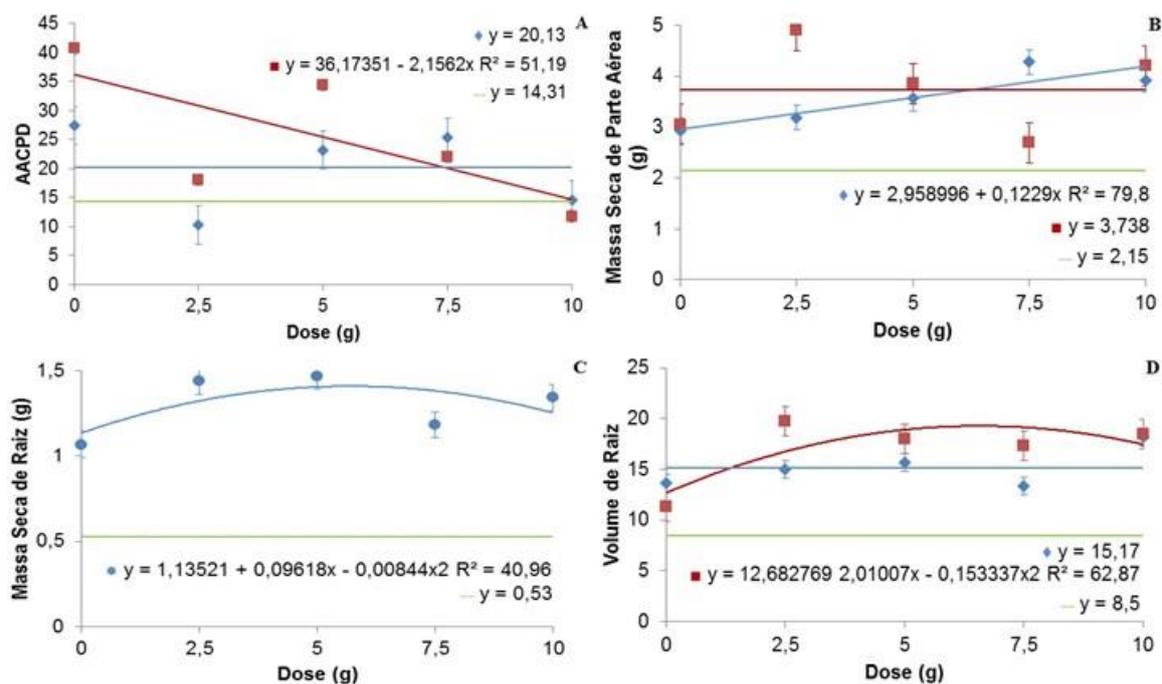


Figura 1. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) (A), Massa Seca de Parte Aérea (B), Massa Seca de Raiz (C) e Volume de Raiz (D), em função da aplicação de diferentes doses de levedura *Rhodotorula glutinis* (♦), *Sporidiobolus johnsonii* (■) em comparação ao tratamento com Acibenzolar-S-metil (ASM) (—) e tratamento com os dois isolados de levedura sem desdobramento (●) em condições de cultivo protegido. Barras indicam a média \pm o erro padrão.

O resultado de redução de severidade observado para a levedura *S. johnsonii* corrobora com os resultados obtidos por Heling et al. (2016). Os autores utilizaram esta levedura para o manejo do cretamento bacteriano comum do feijoeiro em condições de campo e observaram redução de 50,83% na severidade da doença quando comparado com a testemunha, indicando que *S. johnsonii* pode ser um potencial agente de controle biológico e/ou indutor de resistência para manejo do cretamento bacteriano comum do feijoeiro. O isolado *R. glutinis* não interferiu na severidade do cretamento bacteriano comum do feijoeiro independente da dose utilizada, apresentando AACPD 28,91% superior ao tratamento controle (ASM).

A menor severidade da doença com a aplicação de ASM era esperado, sendo um análogo do ácido salicílico funciona como um regulador vegetal ativando mecanismos de defesas das plantas. Dessa forma justifica a redução para as demais variáveis analisadas em decorrência da aplicação do ASM, mostrando que a

planta utilizou metabolitos para se defender e reduziu as demais variáveis avaliadas (MAZARO, et al. 2012; BERTONCELLI, et al. 2015).

A redução da severidade da doença proporcionado por *S. johnsonii*, pode estar ligada a indução de resistência da rota do ácido jasmônico, já que esta rota não demanda de um gasto demasiado de energia pela planta (VERHAGEN et al., 2004).

A ação antagônica dos isolados provavelmente também corrobora para se obter estes resultados. Heling et al. (2016) observaram que o isolado *R. glutinis* é capaz de produzir compostos voláteis e não voláteis, que reduziram em 8,40% e 41,97%, respectivamente, o número de colônias de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, assim como para o isolado *S. johnsonii* que apresentou redução de colônias de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* de 84,87% para compostos voláteis e 31,63% para compostos não voláteis.

Para massa seca de parte aérea (MSPA) percebeu-se que *R. glutinis* proporcionou incremento no acúmulo de massa seca de forma linear, alcançando na dose de 10 g L⁻¹ valor de 3,92 g, 25,26% maior que a dose zero (2,93 g). No entanto *S. johnsonii* não interferiu no crescimento do feijoeiro produzindo massa seca em média de 3,74 g. Por outro lado, ao comparar com o ASM, constata-se que este reduziu o acúmulo de massa seca em 29,51% em relação a dose zero e 45,15% a menos em relação a máxima produção de matéria seca com tratamento de *R. glutinis* na dose de 10 g L⁻¹ (Figura 1B).

Para massa seca de raiz (MSR) as duas leveduras não apresentaram diferenças entre as doses, mas foram superiores ao ASM em 62,14% na dose de 5,7 g L⁻¹ (Figura 1B). Já para o volume de raiz (VR) o isolado *R. glutinis* apresentou média de 15,8 cm³ independente da dose utilizada e o isolado *S. johnsonii* apresentou o maior volume de raiz na dose 6,55 g L⁻¹ com volume de 19,27 cm³, as duas leveduras superaram o ASM (8,5) em 43,97% e 55,89% respectivamente (Figura 1C).

Este incremento no volume de raiz proporcionado por *R. glutinis* pode ser por decorrência da interferência no metabolismo da planta como indicado por Ranadive; Mehta e George (2011) em seu estudo demonstrando a síntese pelas leveduras de coenzima Q10.

Microrganismos não patogênicos podem atuar como promotores de crescimento, interagindo com as plantas e induzindo principalmente a produção

hormônios como o ácido indol acético, atuando assim no desenvolvimento das plantas, Machado et al. (2011) e Khan et al. (2012) evidenciaram o fato de que alguns microrganismos do gênero *Rhizobium*, *Trichoderma*, bactéria (*Rahnella* sp.) e leveduras (*R. graminis* e *R. mucilaginosa*), podem promover crescimento, com resultados, em alguns casos semelhantes aos de uma adubação química, indicando que os resultados da presente pesquisa possam ser em decorrência da promoção de crescimento desencadeada pela levedura, neste *R. glutinis* proporcionou incremento na MSPA de 25,26% na dose de 10 g L⁻¹ quando comparado com a dose zero.

Ambos os isolados (*R. glutinis* e *S. johnsonii*) apresentaram incremento na MSR (Figura 1D) de 24,11% na dose 5,7 g L⁻¹ quando comparado com a dose zero e 62,14% superior ao ASM, o que indica ocorrência de promoção de crescimento, melhorando a capacidade de absorção de água e nutrientes.

Por outro lado, outra hipótese que pode colaborar para explicar a obtenção destes resultados obtidos (para MSPA, MSR e VR), segundo Lopes et al. (2015), é que as leveduras possuem ação antagônica, produzindo compostos antimicrobianos, competindo por espaço e nutrientes, assim afetando os patógenos da cultura, além de reduzir os gastos metabólicos da planta, atuando como indutor de resistência, como neste trabalho o isolado *S. johnsonii*.

4.2 EFEITO DO NÚMERO DE APLICAÇÕES FOLIARES NO FEIJOEIRO

No experimento em casa de vegetação para efeito de número de aplicações mais adequada para cada levedura observou-se pela análise de variância que para a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) a interação apresentou significância ($P < 0,05$), ao proceder o desdobramento, observou-se que a menor AACPD foi obtida com a levedura *R. glutinis* com duas aplicações apresentando redução da doença de 24,90 para 9,28 (redução de 62,73%). Já o isolado *S. johnsonii* apresentou efeito linear, e com o aumento do número de aplicações reduziu o progresso da doença de 23,90 na dose zero para 11,98, totalizando redução de 49,88%. Comparando estes resultados com o ASM a menor AACPD é de 16,36 com duas aplicações e esta foi 43,28% e 26,77% superior as leveduras *R. glutinis* e *S. johnsonii* respectivamente (Figura 2).

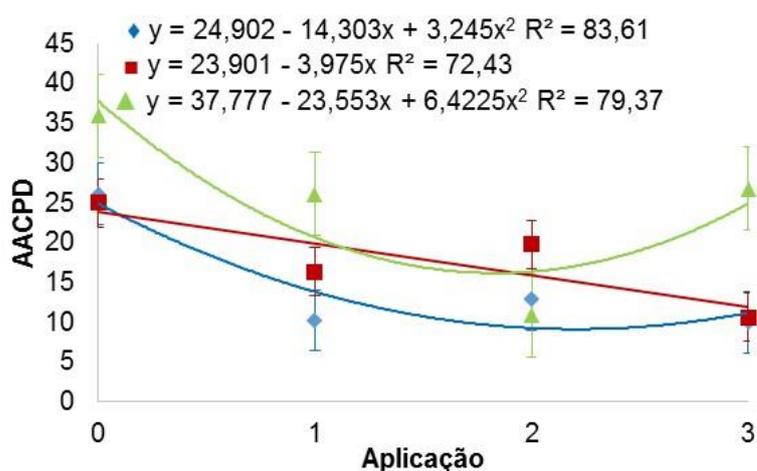


Figura 2. Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), em função da aplicação de levedura *Rhodotorula glutinis* - 5 g L⁻¹ (◆), *Sporidiobolus johnsonii* - 5 g L⁻¹ (■) e Acibenzolar-S-metil (ASM) 25 g L⁻¹ (▲) em 0, 1, 2 ou 3 aplicações, quinzenalmente em condições de campo. Barras indicam a média ± o erro padrão.

Estes resultados representam o potencial que os isolados *R. glutinis* e *S. johnsonii* tem para a redução da severidade de cretamento bacteriano comum do feijoeiro, podendo auxiliar no manejo desta doença. Os isolados podem ter atuado como agentes indutores de resistência, ativando as defesas das plantas (MAZARO et al. 2012; BERTONCELLI et al. 2015).

Estes resultados corroboram com Heling et al. (2016) que indicam que a redução do progresso do cretamento bacteriano comum do feijoeiro foi de 53,70% e 50,83% para os isolados *R. glutinis* e *S. johnsonii*, semelhante ao encontrado na presente pesquisa, deixando claro que estas leveduras podem atuar como indutores de resistência.

Para o VR as leveduras *R. glutinis* e *S. johnsonii* apresentaram médias semelhantes quando comparadas por Tukey ($p < 0,05\%$) 44,38 e 45,25 dm³, respectivamente, ambas foram superiores ao ASM com 37,19 dm³. A MSR o isolado *R. glutinis* apresentou a maior média (5,96 g) diferindo dos demais tratamentos. Já a MSPA não apresentou diferença entre os tratamentos (Tabela 2).

Os resultados demonstram a redução da severidade da doenças desempenhados pelos tratamentos, onde é possível observar a redução da severidade e a manutenção dos componentes de crescimento VR, MSR e a MSPA, considerando que possivelmente tenha ocorrido a indução pela rota do ácido

jasmônico, que demanda de menor gasto de energia por parte da planta, assim não utilizando uma fração da energia destinada para a produção (VERHAGEN et al., 2004).

Tabela 2. Volume de Raiz (VR), Massa Seca de Raiz (MSR) e Massa seca de parte Aérea (MSPA) em função da aplicação de levedura *Rhodotorula glutinis* - 5 g L⁻¹, *Sporidiobolus johnsonii* - 5 g L⁻¹ e Acibenzolar-S-metil (ASM) 25 g L⁻¹ em 0, 1, 2 ou 3 aplicações, quinzenalmente em condições de casa de vegetação.

Tratamentos	Volume de raiz (VR)	Massa seca de raiz (MSR)	Massa seca de parte aérea (MSPA) ^(ns)
	dm ³		(g)
<i>R. glutinis</i>	44,38a	5,96a	4,38
<i>S. johnsonii</i>	45,25a	4,28b	4,53
Acibenzolar-S- metil	37,19b	4,28b	4,00
CV (%)	14,39	36,16	20,78
Média geral	42,27	4,84	4,31

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente $p > 0,05$. ns: não significativo. CV: Coeficiente de Variação (%).

Outra explicação pode ser a manutenção do crescimento por parte das leveduras que no caso apresentaram VR superior ao ASM, e no caso do isolado *R. glutinis* que apresentou MSR superior aos demais. Isso pode indicar a produção e atuação de outros componentes por parte das leveduras, conseqüentemente, aumentando o desenvolvimento da planta (MACHADO et al., 2011; KHAN et al., 2012).

4.3 APLICAÇÃO FOLIAR DE LEVEDURAS EM FEIJOEIRO NO CULTIVO DE OUTONO-INVERNO

Para os resultados a campo observa-se que para AACPD para os isolados *R. glutinis* e *S. johnsonii* não ocorreu diferença entre o número de aplicação, mas já para o tratamento com ASM a resposta foi significativa ajustada a uma curva

quadrática causando o aumento da severidade com até duas aplicações, e reduzindo posteriormente (Figura 3A).

O isolado *R. glutinis* apresentou maior número de vagens por planta com duas aplicações, já para o isolado *S. johnsonii* conforme aumentou o número de aplicações reduziu o número de vagens por plantas e o ASM apresentou maior número de vagem por planta com três aplicações (Figura 3B).

Já para o número de grãos por vagem o isolado *R. glutinis* e o ASM não apresentaram diferença quanto ao número de aplicações e para o isolado *S. johnsonii* com o aumento do número de aplicações se elevou o número de grãos por vagem (Figura 3C).

Tanto para massa de mil grãos quanto para produtividade o isolado *R. glutinis* apresentou resultado superior com duas aplicações, já o isolado *S. johnsonii* não apresentou diferença quanto ao número de aplicações e para o ASM houve menor massa de mil grãos com uma aplicação e para a produtividade não houve diferença entre os números de aplicações (Figura 3D e E).

Os isolados de levedura *R. glutinis* e *S. johnsonii* não apresentaram diferença de severidade entre os números de aplicações, já o ASM induziu suscetibilidade da planta com duas e três aplicações. A interação patógeno-hospedeiro pode explicar este resultado, pois ocorrem diferenças quantitativas nas respostas de mecanismos de indução de resistência quando utilizado o ASM (BECKMAN et al., 1989). Esta indução de suscetibilidade também pode ter ocorrido pelo estresse ocasionado pelas baixas temperaturas que ocorreram durante a condução do experimento (Figura 4), não ativando adequadamente os mecanismos de defesa da planta, ocorrendo uma supressão de genes de resistência (NOMURA et al., 2005).

Como pode se observar na figura 4 a temperatura afetou os parâmetros produtivos da cultura, a temperatura mínima a partir do mês de abril até o fim do ciclo em julho ficou entre 3 e 7 °C, isso afeta a cultura principalmente pela ocorrência do abortamento de flores e vagens, pois a temperatura para o desenvolvimento adequado da cultura está no intervalo de 21 a 29,5 °C (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007).

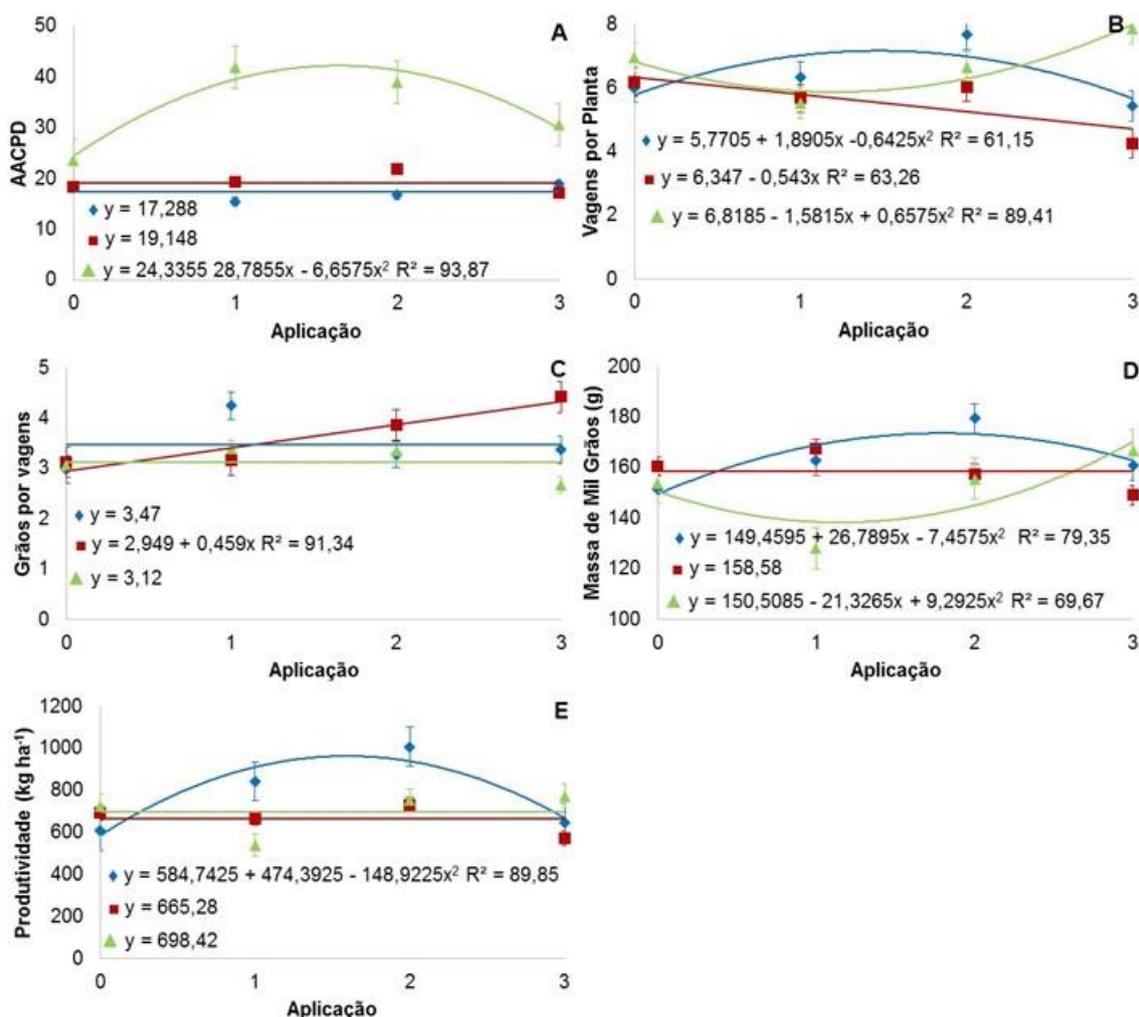


Figura 3. Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) (A), Vagens por plantas (B), grãos por vagens (C), massa de mil grãos (D) e produtividade (E), em função da aplicação de levedura *Rhodotorula glutinis* - 5 g L⁻¹ (◆), *Sporidiobolus johnsonii* - 5 g L⁻¹ (■) e Acibenzolar-S-metil (ASM) 25 g L⁻¹ (▲) em 0, 1, 2 ou 3 aplicações, quinzenalmente em condições de campo na safra de outono-inverno. Barras indicam a média ± o erro padrão.

Deste modo mesmo com a aplicação dos tratamentos, as baixas temperaturas colaboraram para o aumento no abortamento de vagens (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007), reduzindo o número de vagens por consequência. Hoffmann et al. (2012) em trabalho de campo, também sob condições de estresse, não observaram diferença entre as leveduras *S. cerevisiae*, *S. boulardii* e ASM, porém o experimento não variou o número de aplicações, sendo fixado três aplicações durante o ciclo.

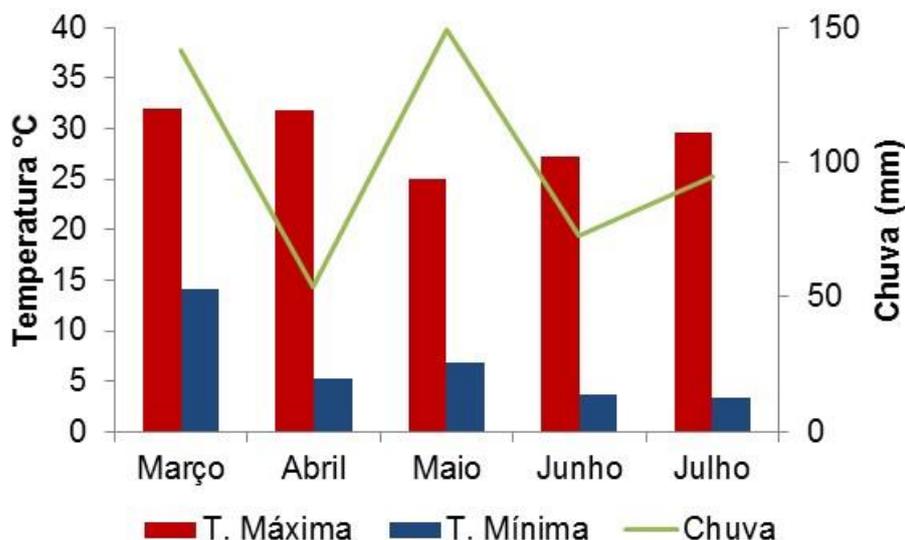


Figura 4. Dados meteorológicos indicando período de condução do experimento no cultivo da seca com temperatura máxima (T. Máxima, °C), temperatura mínima (T. Mínima, °C) e precipitação pluvial (mm).

Embora as condições ambientais durante a condução do experimento não serem ideais para a cultura do feijoeiro, se observa que os isolados *R. glutinis* e *S. johnsonii* apresentaram incrementos em algumas variáveis analisadas. A baixa temperatura interferiu nos resultados obtidos, diferente do que Heling et al. (2016) observaram quando utilizaram estes mesmos isolados para o controle de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, em que a temperatura média foi de 22,9 a 24,4 °C, apresentando redução de 53,70% para o isolado *R. glutinis* e 50,83% para o isolado *S. johnsonii* da severidade de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, quando comparado com a testemunha, demonstrando grande potencial destes isolados para o controle de cretamento bacteriano comum do feijoeiro.

Os componentes de produção avaliados apresentaram diferenças entre os tratamentos. Para NVP o isolado *R. glutinis* apresentou a maior média de vagens com duas aplicações (7,67 vagens por planta), no caso do isolado *S. johnsonii* com o aumento do número de aplicações houve uma redução linear desta variável (variando de 6,18 para 4,25 vagens por planta, diferente do que ocorreu com o ASM que apresentou maior NVP com três aplicações atingindo 7,8 vagens por planta (Figura 3B). Provavelmente estes e os demais componentes de produção foram

interferidos pela condição climática no decorrer da condução do experimento (Figura 4).

Para o NGV o isolado *R. glutinis* e o ASM não apresentaram diferença entre o número de aplicações para esta variável, apresentando média de 3,47 e 3,12 grãos por vagem respectivamente, mas para o isolado *S. johnsonii* ocorreu a manutenção e elevação do número de vagens por plantas com o aumento do número de aplicações, atingindo um máximo de 4,42 grãos por vagem com três aplicações (Figura 3C).

O que pode ter ocorrido neste caso foi que o isolado *S. johnsonii*, atuou como promotor de crescimento, como já foi observado no experimento em casa de vegetação assim elevando o número de grãos por vagem.

A massa de mil grãos e a produtividade estão diretamente relacionadas, assim o isolado *R. glutinis* apresentou elevação para os dois parâmetros até duas aplicações com a terceira aplicação ocorreu uma queda, sendo o máximo obtido com duas aplicações (179,33 g e 1006,44 kg ha⁻¹ respectivamente). As condições ambientais e o tratamento com ASM contribuíram para reduzir a massa de mil grãos da cultura, já que a massa de mil grãos em condições normais é de 240 g (IAPAR, 2017). Como já foi citado anteriormente o que interferiu para a redução da produtividade foram as condições climáticas, principalmente a baixa temperatura.

Os resultados de produção também indicam que o isolado *R. glutinis* promoveu um incremento na produtividade com até duas aplicações atingindo 1006,44 kg ha⁻¹, apresentando um incremento de 39,63% (o que equivale a 398,85 kg), mesmo em condições climáticas desfavoráveis ao desenvolvimento da cultura. Isto indica que o isolado pode atuar como promotor de crescimento com até duas aplicações durante o ciclo, mas com três aplicações o resultado indica que a planta provavelmente apresenta desequilíbrio na manutenção de distribuição de metabólitos, induzindo a planta a destinar grande parcela de energia para indução de resistência, (KUHN, 2007; MALAVOLTA, 2006). Já para o isolado *S. johnsonii* e para o ASM a produtividade não se alterou independente da dose. Hoffmann et al. (2012) também não observaram diferença entre a aplicação de levedura e a testemunha (H₂O) para a produtividade, mas os autores observaram redução da produtividade com a aplicação de ASM, no qual os autores indicam está redução ao custo metabólico.

4.4 APLICAÇÃO FOLIAR DE LEVEDURAS EM FEIJOEIRO NO CULTIVO DAS ÁGUAS

Os resultados da aplicação foliar de leveduras no cultivo das águas apresentaram redução linear da AACPD para os isolados. *R. glutinis* reduziu de 26,48 na aplicação zero para 8,78 com três aplicações, uma redução de 66,84%, e *S. johnsonii* reduziu de 31,70 na aplicação zero para 13,18 com três aplicações, reduzindo em 58,42%. Já o ASM apresentou redução da severidade de forma quadrática com o ponto de mínima com duas aplicações, reduzindo de 83,84 para 11,51, o que significa redução de 86,27% a AACPD (Figura 5A).

O isolado *R. glutinis* apresentou redução linear no número de vagens por planta com o aumento do número de aplicações, reduzindo de 18,45 sem aplicação (zero) para 12,31 com três aplicações, já para *S. johnsonii* e ASM não ocorreu diferença entre o número de aplicações apresentando média de 15,67 e 15,75 respectivamente (Figura 5B).

O número de grãos por vagem não foi alterado em função do número de aplicações para os isolados *R. glutinis* e *S. johnsonii* apresentando média de cinco grãos por vagens para ambos os isolados e o ASM apresentou redução do número de grãos por vagem ajustada a uma curva quadrática com ponto de mínima situado em duas aplicações, com 4,76 grãos por vagens (Figura 5C).

Para massa de mil grãos o isolado *R. glutinis* apresentou resultado superior com uma aplicação e não apresentou diferença entre as aplicações para a produtividade, já o isolado *S. johnsonii* não apresentou diferença quanto ao número de aplicações para a MMG e produtividade e o ASM apresentou aumento linear com o aumento do número de aplicações tanto para MMG quanto para produtividade (Figura 5D e E).

Os isolados de levedura (*R. glutinis* e *S. johnsonii*) apresentaram redução linear da severidade, atuando como um indutor de resistência, assim como o ASM que apresentou ponto de mínima com duas aplicações. Resultados semelhantes aos apresentados por Heling et al. (2016), nesta mesma época de cultivo, que obtiveram redução da severidade de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, de 53,70% com aplicação de *R. glutinis* (reduziu a AACPD de 15,66 para 7,25) e 50,83% com *S. Johnsonii* (reduziu a AACPD de 15,66 para 7,70).

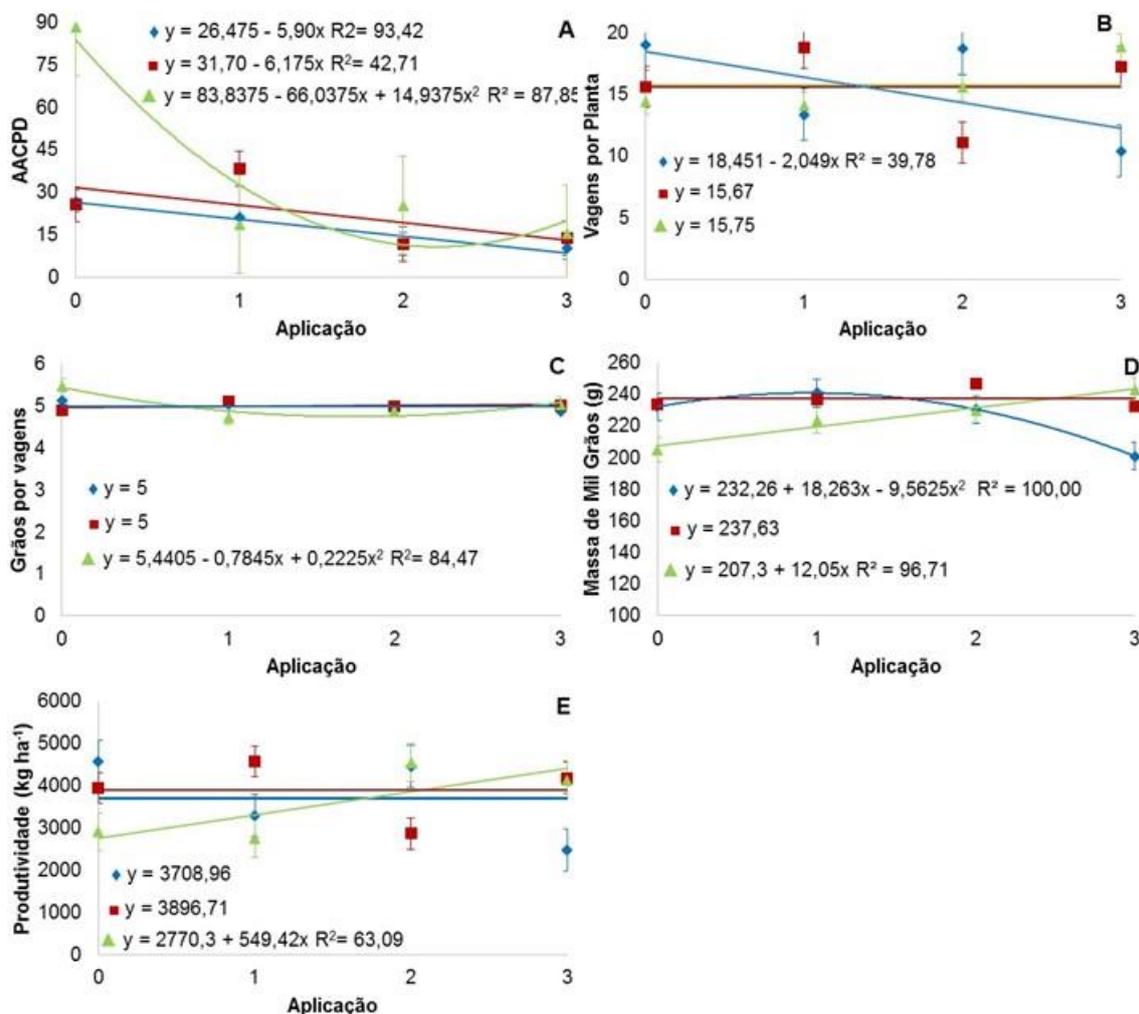


Figura 5. Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) (A), Vagens por plantas (B), grãos por vagens (C), massa de mil grãos (D) e produtividade (E), em função da aplicação de levedura *Rhodotorula glutinis* - 5 g L⁻¹ (♦), *Sporidiobolus johnsonii* - 5 g L⁻¹ (■) e Acibenzolar-S-metil (ASM) 25 g L⁻¹ (▲) em 0, 1, 2 ou 3 aplicações, quinzenalmente em condições de campo na safra das águas. Barras indicam a média ± o erro padrão.

Com a análise dos componentes de produção pode-se observar que com o aumento do número de aplicações, ocorreu redução dos componentes produtivos. O que pode estar ligado a ativação rota do ácido jasmônico pelas leveduras, pois com a sucessiva aplicação acabou utilizando uma parcela da energia que seria destinada para a produção (VERHAGEN et al., 2004).

Para o componente de produção NVP o isolado *R. glutinis* reduziu com o aumento do número de aplicação e os *S. johnsonii* e o ASM não diferiram entre o

número de aplicações, isto indica que ocorreu a ativação de rota metabólica secundária e houve gasto de energia para ativar as defesas (KUHN, 2007).

Com o aumento do número de aplicações do isolado *R. glutinis* pode ter ocasionado estresse na planta, assim ocasionando o abortamento de flores e vagens, conseqüentemente, reduzindo o as vagens por planta (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007), diferente do que Hoffmann et al. (2012) observaram utilizando *S. cerevisiae*, *S. boulardii* e ASM, pois os autores utilizaram três aplicações para cada tratamento e não resultou na variação do número de vagens.

Para o NGV ambos os isolados não apresentaram diferença quanto ao número de aplicações, isto indica que este componente de produção varie mais sobre a influência função do clima como observado no cultivo da seca em que se reduziu este componente para uma média de 3,4 grãos por vagens com a redução da temperatura (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007).

Para massa de mil grãos o isolado *R. glutinis* apresentou ponto de máxima com uma aplicação (240,96 g), o tratamento com ASM apresentou elevação da MMG com o aumento do número de aplicações apresentando 242,08 g com três aplicações, já o isolado *S. johnsonii* não apresentou diferença entre o número de aplicação ficando com média de 237,63, assim os tratamentos apresentam resultados semelhantes, sendo estes semelhantes a MMG obtida pelo IAPAR para o cultivar IAPAR Tuiuiú que é de 240 g (IAPAR, 2017).

Os isolados *R. glutinis* e *S. johnsonii* não apresentaram diferença entre o número de aplicações para a produtividade, apresentando médias de 3708,96 e 3896,71 kg ha⁻¹, respectivamente, já o ASM promoveu aumento linear da produtividade, apresentando produtividade de 4418,56 kg ha⁻¹ com três aplicações, um incremento de 16,06% e 11,81% sobre *R. glutinis* e *S. johnsonii*, respectivamente.

Deste modo quando se observa a AACPD, os isolados reduziram a severidade da doença, mas isso não implica no aumento da produtividade, pois para se defender a planta precisa gastar energia para se defender e quando se realiza aplicações sequenciais a planta é induzida a ativar suas defesas, utilizando energia que seria para produção.

Estes resultados reforçam a ideia de que os isolados apresentaram custo metabólico para induzir a planta a se defender com grande pressão de inóculo,

assim necessitando que a planta destine mais energia para se defender (KUHN, 2007; MALAVOLTA, 2006).

5 CONCLUSÕES

O presente trabalho nos permite chegar as seguintes conclusões:

1. As leveduras *R. glutinis* e *S. johnsonii* reduzem a severidade do crestamento bacteriano comum do feijoeiro.
2. Também podem atuar como indutores de crescimento de plantas.
3. A melhor dose é 5 g L⁻¹ para as duas leveduras.
4. O número de aplicações mais adequado são duas para as leveduras *R. glutinis* e *S. johnsonii*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, A. S.; EZZIYYANI, M.; SANCHEZ, C. P.; CANDELA, M. E. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109, p. 633–637, 2003.
- ANDRADE, M. J. B.; OLIVEIRA, D. P.; FIGUEIREDO, M. A.; MARTINS, F. A. D. Exigências edafoclimáticas. In: CARNEIRO, J. E. S.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão: do plantio à colheita**. ed. UFV, p. 67-95, 2015
- ANIL, K.; NARAYAN DAS, S.; PODILE, A. R. Induced defense in plants: a short overview. **Proceedings National Academy of Sciences**, v. 84, n. 3, p. 669–679, 2014.
- BARRETTI, P. B.; SOUZA, R. M.; POZZA, E. A.; RESENDE, M. L. V. Aplicação e doses de acibenzolar-S-metil na proteção contra a murcha bacteriana, população do patógeno e crescimento do tomateiro. **Tropical Plant Pathology**. v. 35, n. 4, p. 229-235, 2010.
- BECKMAN, C. H.; VERDIER, P. A.; MUELLER, W. C. A. System of defence provided by vascular parenchyma cells of tomato in response to vascular infection with *Fusarium oxysporum* fsp. *licopersici*, race 1. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 34, p. 227-239, 1989.
- BEDENDO, I. P.; AMORIM, L. Ambiente e doença. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Ceres, p. 133-148, 2011.
- BEDENDO, I. P.; MASSOLA, N. S.; AMORIM, L. Controle cultural, físico, e biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Ceres, p. 367-388, 2011.
- BERTONCELLI, D. J.; MAZARO, S. M.; ROCHA, R. C. D. S.; POSSENTI, J. C.; WAGNER JÚNIOR, A. Acibenzolar-S-metil na indução de resistência de tomateiro e controle de *Rhizoctonia solani* Kuhn *in vitro*. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v. 8, n. 2, p. 43-50, 2015.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Embrapa Meio Ambiente, p. 341, 2009.
- BOEKHOUT, T.; FONSECA, A.; SAMPAIO, J. P.; BANDONI, R. J.; FELL, J. W.; KWON-CHUNG, K. J. Discussion of Teleomorphic and Anamorphic *Basidiomycetous* Yeasts. In: KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. **The yeasts: a taxonomic study**. 5 ed., p. 1339–1372, 2011.
- BORÉM, A.; CARNEIRO, J. E. S. A cultura. In: CARNEIRO, J. E. S.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão: do plantio à colheita**. ed. UFV, p. 9-15, 2015.

CASSAL, V. B.; AZEVEDO, L. F.; FERREIRA, R. P.; SILVA, D. G.; SIMÃO, R. S. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas**. v. 18, n. 1, p. 437-445, 2014.

CASTORIA, R.; MORENA, V.; CAPUTO, L.; PANFILI, G.; DE CURTIS, F.; DE CICCIO, V. Effect of the Biocontrol Yeast *Rhodotorula glutinis* Strain LS11 on Patulin Accumulation in Stored Apples. **Phytopathology**, v. 95, n. 11, p. 1271-1278, 2005.

CHOI, J. H.; RYU, Y. W.; SEO, J. H. Biotechnological production and applications of Coenzyme Q10. **Applied Microbiology Biotechnology**. v. 68, p. 9-15, 2005.

COELHO, A. R.; NÓBREGA, G. M. A.; PAGNOCCA, F. C.; HOFFMANN, F. L.; HARADA, K.; HIROOKA, E. Y. Avaliação do potencial antagônico de leveduras, visando biocontrole de deterioração por *Penicillium expansum*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, suplemento 1, p. 1879-1892, 2011.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v. 4, n. 4 (2015), p. 160, 2017.

CRUZ, C. D. Genes: um pacote de software para análise em estatística experimental e genética quantitativa. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

CTSBF. Comissão Técnica Sul-Brasileira de Feijão. **Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira**. 2. ed. Epagri, p. 157, 2012.

DAMIN, S.; VILANI, A.; FREITAS, D.; KRASBURG, C.; de QUEIROZ, J. A.; KAGIMURA, F. T.; ONOFRE, S. B. Ação de fungicidas sobre o crescimento do fungo entomo patogênico *Metarhizium* sp. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 9, n. 1, p. 41-49, 2011.

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

DÍAZ, C.G.; BASSANEZI, R.B.; GODOY, C.V.; LOPES, D.B.; BERGAMIN FILHO, A. Quantificação do efeito do cretamento bacteriano comum na eficiência fotossintética e na produção do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 71-76, 2001.

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A. L. **Produção de feijão**. Agropecuaria, 2000. 385p.

EL-SHEEKH, M. M.; MAHMOUD, Y. A. G.; ABO-SHADY, A. M.; HAMZA, W. Efficacy of *Rhodotorula glutinis* and *Spirulina platensis* Carotenoids in Immunopotential of Mice Infected with *Candida albicans* SC5314 and *Pseudomonas aeruginosa* 35. **Folia Microbiologica**, v. 55, n. 1, p. 61-67, 2010.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de feijão**. Livroceres, 2007. 386p.

FELL, J. W.; BOEKHOUT, T.; FONSECA, A.; SCORZETTI, G.; STATZELL-TALLMAN, A. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 1351–1371, 2000.

FLEET, G. H. Yeast spoilage of foods and beverages. In: KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W.; BOEKHOUT, T. **The Yeasts: A Taxonomic Study**, 5 ed., p. 53-64. 2011.

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 43, p. 205-227, 2005.

GONÇALVES, R. C.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. Armazenamento de microrganismos em cultura com ênfase em fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**, Editora UFV, p. 91-102, 2007.

HELING, A. L. **Isolamento, identificação e avaliação do potencial de leveduras como agentes de proteção de plantas de feijoeiro ao crestamento bacteriano comum**. 2016,51f. Dissertação (Mestrado Agronomia) Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE. 2016.

HELING, A. L.; KUHN, O. J.; STANGARLIN, J. R.; HENKEMEIER, N. P.; CARVALHO, J. C.; LORENZETTI, E. Controle de crestamento bacteriano comum na cultura do feijoeiro, mediado por leveduras. In: Congresso de Ciências Agrárias da UNIOESTE, 8., 2016, Marechal Cândido Rondon-PR. **Anais**. VIII SECIAGRA, p.200-205, 2016.

HERNÁNDEZ, A. G. **Promoção Do Crescimento De Leguminosas Herbáceas Utilizando Rizóbios Isolados De Áreas De Mineração De Carvão**. 2015, 93 f. dissertação (Mestrado Biotecnologia e Biociências) Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. 2015.

HERNÁNDEZ-ALMANZA, A.; MONTANEZ, J. C.; AGUILAR-GONZÁLEZ, M. A.; MARTÍNEZ-ÁVILA, C.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; AGUILAR, C. N. *Rhodotorula glutinis* as source of pigments and metabolites for food industry. **Food Bioscience**, v. 5, p. 64-72, 2013.

HOFFMANN, M. R. B.; KUHN, O. J.; STANGARLIN, J. R.; BATTISTUS, A. G.; STÜLP, J. L.; MEINERZ, C. C. Controle do crestamento bacteriano comum por *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* e óleo essencial de laranja em feijoeiro suscetível e moderadamente resistente. **Cultivando o Saber**, v. 5, n. 4, p. 8-23, 2012.

HOAGLAND, R. E. Biochemical responses of plants to pathogens. In: HOAGLAND, R.E. (Ed.). **Microbes and microbial products as herbicides**, p. 87-113, 1990.

IAPAR – Instituto Agrônomo do Paraná. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1363>>. Acesso em: 10 de dez. 2017.

KHAN, Z.; GUELICH, G.; PHAN, H.; REDMAN, R.; DOTY, S. Bacterial and yeast endophytes from poplar and willow promote growth in crop plants and grasses. **International Scholarly Research Network Agronomy**, v. 2012, p. 11, 2012.

KREGER-VAN RIJ, N. J. W. **The yeasts: a taxonomic study**, 3.ed. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, p. 1082, 1984.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzilar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. 2007, 140f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

LO, S. C.; NICHOLSON, R. L.; TREMACOLDI, C. R. (Trad.) Compostos fenólicos e importância nas doenças em plantas. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**, V. 13, p. 285-303, 2008.

LOBO JÚNIOR, M.; GERALDINE, A. M.; CARVALHO, D. D. C. **Controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma* spp., na cultura do feijoeiro comum**, Circular técnica 85, Embrapa Arroz e Feijão, p. 4, 2009.

LOPES, M. R.; KLEIN, M. N.; FERRAZ, L. P.; DA SILVA, A. C.; KUPPER, K. C. *Saccharomyces cerevisiae*: A novel and efficient biological control agent for *Colletotrichum acutatum* during pre-harvest. **Microbiological Research**, v. 175, p. 93–99, 2015.

LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 395-417. 2010.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, p. 631, 2006.

MACHADO, R. G.; DE SÁ, E. L. S.; DAMASCENO, R. G.; HAHN, L.; ALMEIDA, D.; MORAES, T.; CAMARGO, F. A. O.; REARTES, D. S. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L. e *Avena strigosa* Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. **Ciência e Natura**, v. 33, n. 2, p. 111-126, 2011.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. On-line. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em :23 jan. 2017.

MAZARO, S. M.; DESCHAMPS, C.; GOUVEA, A.; CITADIN, I.; WAGNER JUNIO, A. Indução de resistência a doenças foliares e de flores em morangueiro por quitosana e acibenzolar-s-metil. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 18, n. 2-4, p. 143-150, 2012.

NASSAR, R. M. A.; AHMED, Y. M.; BOGHDADY, M. S. Botanical Studies on *Phaseolus vulgaris* L. I-Morphology of Vegetative and Reproductive Growth. **International Journal of Botany**, v. 6, n. 3, p. 323-333, 2010.

NOMURA, K.; NELOTO, M.; HE, S. Y. Suppression on host defense in compatible plant – *Pseudomonas syringae* interactions. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 8, n. 4, p. 361-368, 2005.

PASCHOLATI, S. F. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia. Volume 1: Princípios e Conceitos**. 4ª ed. Editora Agronômica Ceres Ltda. p. 593-636, 2011.

PAULA JÚNIOR, T. J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão**, 2. ed. Editora UFV, p. 359-414, 2006.

PEREIRA, V. G. C.; GRIS, D. J.; MARANGONI, T.; FRIGO, J. P.; DE AZEVEDO, K. D.; GRZESIUCK, A. E. Exigências Agroclimáticas para a Cultura do Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 3, p. 32-42, 2014.

PICCININ, E.; DI PIERO, R. M.; PASCHOLATI, S. F. Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na produtividade de sorgo e na severidade de doenças foliares no campo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 5-9, 2005

PONSTEIN, A. S.; VLOEMANS, S. A. B.; BUURLAGE, M. B. S.; ELZEN, P. J. M.; MELCHERS, L. S.; CORNELISSEN, B. J. C. A novel pathogen - and wound-inducible tobacco (*Nicotiana tabacum*) protein with antifungal activity. **Plant Physiology**, v. 104, p. 109-118, 1994.

RANADIVE, P.; MEHTA, A.; GEORGE, S. Strain improvement of *Sporidiobolus johnsonii* –ATCC 20490 for biotechnological production of Coenzyme Q10. **International Journal of Chemical Engineering and Applications**, v. 2, n. 3, p. 216-220, 2011.

ROMEIRO, R. S. **Bactérias fitopatogênicas**. 2 ed. Ed. UFV, p. 417, 2005.

ROMEIRO, R. S. **Controle biológico de doenças de plantas: fundamentos**. Ed. UFV, p. 269, 2007.

SAN ROMÃO, M. V.; Biological diversity preservation as a challenge - the role of microbiological cork colonisation a short review. **Ciência Técnica Vitivinícola**, v. 24, n. 2, p. 81-90, 2009.

SANTOS, J. B.; GAVILANES, M. L.; VIEIRA, R. F.; PINHEIRO, L. R. Botânica. In: CARNEIRO, J. E. S.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão: do plantio à colheita**. ed. UFV, p. 37-66, 2015

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

SHANMUGAIAH, V.; BALASUBRAMANIAN, N.; GOMATHINAYAGAM, S.; MANOHARAN, P. T.; RAJENDRAN, A. Effect of single application of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on growth promotion in cotton plants. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 11, p. 1220-1225, 2009.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. (Ed.). **Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular**, p. 227-248, 2008.

SILVA, R. A.; REIS V. M.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F. L. Defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos. **Documento 250, Embrapa Agrobiologia**, p.49, 2008.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011.

SUN, P.; FANG, W.; SHIN, L.; WEI, J.; FU, S.; CHOU, J. Indole-3-Acetic Acid-Producing Yeasts in the Phyllosphere of the Carnivorous Plant *Drosera indica* L. **Public Library of Science**, v. 9, n. 12, p. 22, 2014

TORRES, J. P.; MARINGONI, A.C. Crestamento Bacteriano Comum. In: PRIA, M.D.; SILVA, O. C. **Cultura do feijão: doenças e controle**, Editora UEPG, 2010. p. 15-22

TRUJILLO, J. A. B. **Micología Médica Básica**, 4ª ed. p. 583, 2012

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Leveduras para o biocontrole de fitopatógenos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**, Embrapa Meio Ambiente, p. 388, 2000.

VERHAGEN, B. W. M.; GLAZEBROOK, J.; ZHU, T.; CHANG, H. S.; VAN LOON, L. C.; PIETERSE, C. M. J. The transcriptome of rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis*. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 17, p. 895-908, 2004.

VIDA, J. B.; ZAMBOLIM, L.; TESSMANN, D. J.; BRANDÃO FILHO, J. U. T.; VERZIGNASSI, J. R.; CAIXETA, M. P. Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 4, 2004. p. 355-372.

YADAV, S.; MANJUNATHA, K. H.; RAMACHANDRA, B.; SUCHITRA, N.; PRABHA, R. Characterization Of Pigment Producing Rhodo. **Asian Journal of Dairy & Food Research**, v. 33, n. 1, p. 1-4, 2014.

WENDLAND, A.; MOREIRA, A. S.; BIANCHINI, A.; GIAMPAN, J. S.; LOBO JR, M. Doenças do feijoeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.;

CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: volume 2 doenças de plantas cultivadas**. 5. ed., p. 383-396, 2016.

ZHANG, H.; MA, L.; WANG, L.; JIANG, S.; DONG, Y.; ZHENG, X. Biocontrol of gray mold decay in peach fruit by integration of antagonistic yeast with salicylic acid and their effects on postharvest quality parameters. **Biological Control**, v. 47, n. 1, p. 60-65, 2008.

ZANARDO, N. M. T.; PASCHOLATI, S. F.; FIALHO, M. B. Resistência de plântulas de pepineiro a *Colletotrichum lagenarium* induzida por frações de extrato de *Saccharomyces cerevisiae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 11, p. 1499-1503, 2009.