UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON

TAÍS REGINA KOHLER

LEVEDURAS E SEUS EFEITOS NO MANEJO BIOLÓGICO DE ANTRACNOSE EM SOJA E NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ
2026

TAÍS REGINA KOHLER

LEVEDURAS E SEUS EFEITOS NO MANEJO BIOLÓGICO DE ANTRACNOSE EM SOJA E NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Dr. Odair José Kuhn
Coorientadores: Dr. Gilberto Costa Braga e Dr. Jeferson Carlos Carvalho

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ
2026

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Kohler, Taís Regina
Leveduras e seus efeitos no manejo biológico de antracnose em soja e na promoção de crescimento vegetal / Taís Regina Kohler; orientador Odair José Kuhn; coorientador Gilberto Costa Braga . -- Marechal Cândido Rondon, 2026.
78 p.

Tese (Doutorado Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2026.

1. agentes de biocontrole. 2. Colletotrichum truncatum. 3. Glycine max. 4. leveduras antagonistas. I. Kuhn, Odair José , orient. II. Braga , Gilberto Costa, coorient. III. Título.

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

TAÍS REGINA KOHLER

Leveduras e seus efeitos no manejo biológico de antracnose em soja e na promoção de crescimento vegetal

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitossanidade e Controle Alternativo, APROVADA pela seguinte banca examinadora:

Orientador - 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)

José Barbosa Duarte Júnior
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Anderson Luís Heling
Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná)

Documento assinado digitalmente
gov.br ROBERTO LUIS PORTZ
Data: 30/03/2026 14:44:57-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Roberto Luis Portz
Universidade Federal do Paraná - Campus de Palotina (UFPR)
(por videoconferência)

Marechal Cândido Rondon, 30 de março de 2026

AGRADECIMENTOS

Á Deus pela saúde, pelas graças que tem concedido a cada dia e por ter me capacitado a tornar realidade essa conquista em minha vida.

A meus pais Valério e Cleci Kohler pelo amor e apoio incondicional durante toda a minha existência. Pelo amparo e ajuda incessante quando precisei e também, por acreditarem em mim, na minha capacidade e vontade de chegar até o fim de mais uma etapa de vida.

A minha irmã Tânia Kohler pelo apoio, companheirismo e amizade.

Ao meu companheiro Arion Ramos por sempre estar do meu lado e me fazer companhia nos momentos de estudo.

Ao professor Dr. Odair José Kuhn pela oportunidade, pela valiosa orientação e ensinamentos, pelo seu profissionalismo e pela sua amizade.

Aos demais professores pelos conselhos, técnicas e incentivos a buscar sempre o conhecimento.

Aos meus amigos e colegas de pós-graduação e graduação pela amizade e por sempre estarem de braços abertos para dar apoio e um ombro amigo quando fosse preciso.

A todos os amigos que fiz nos Laboratórios de Fitopatologia e Nematologia e demais laboratórios pela ajuda e suporte técnico quando necessário.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal do Nível Superior - CAPES pela concessão de bolsa para realização deste estudo.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta obra, não citados e ou por vezes não lembrados, nunca menos importantes.

Muito obrigada!

RESUMO

KOHLER, Taís, R. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, março de 2026. **Leveduras e seus efeitos no manejo biológico de antracnose em soja e na promoção de crescimento vegetal.** Orientador: Odair José Kuhn. Coorientadores: Gilberto Costa Braga e Jeferson Carlos Carvalho.

As leveduras têm-se mostrado uma estratégia promissora e sustentável para o manejo de doenças e a promoção de crescimento vegetal em sistemas agrícolas. Portanto, objetivou-se avaliar o potencial de leveduras no controle biológico da antracnose e o efeito destas leveduras na promoção de crescimento em plantas de soja. Para isso, realizou-se ensaios *in vitro* para avaliar os efeitos de oito espécies de leveduras no crescimento micelial e na germinação de esporos de *Colletotrichum truncatum*. Em casa de vegetação, foram realizados ensaios para verificar o efeito destas leveduras na redução da severidade da antracnose em soja, bem como os possíveis mecanismos relacionadas à defesa vegetal envolvidos. Por fim, realizou-se ensaio para analisar a promoção de crescimento de plantas de soja quando tratadas com as leveduras. Constatou-se que nenhuma das oito leveduras interferiu no crescimento micelial de *C. truncatum*. *Candida albicans* apresentou em média 42,5% de inibição de germinação de conídios. As demais leveduras não promoveram inibição da germinação de conídios de *C. truncatum*. As leveduras também não reduziram a severidade da antracnose em plantas de soja, nas condições do ensaio. Porém, *Rhodotorula glutinis* e *Pichia pini* mostraram-se capazes de induzir o metabolismo defensivo em plantas de soja, atuando em diferentes mecanismos de ação, porém não contra *C. truncatum* nas condições do ensaio. *R. glutinis* incrementou em 200% a atividade da enzima polifenoloxidase. *P. pini* induziu em 98% a atividade da enzima β-1,3-glucanase após a presença do patógeno. No entanto, *Sporidiobolus johnsonii*, *Zygoascus hellenicus*, *R. glutinis* e *Rhodotorula aurantiaca* induziram incrementos promissores em diferentes variáveis agronômicas relacionadas ao crescimento vegetal. *S. johnsonii* incrementou em 31% o número de trifólios totais, 164% o número de flores, 45% o número de ramos vegetativos/reprodutivos, 45% na massa seca de parte aérea, 114% no volume de raízes e 121% na massa fresca de raízes. Enquanto, *Z. hellenicus* incrementou em 42% o número de ramos vegetativos/reprodutivos, 90% o volume de raízes e 80% a massa fresca de raízes. *R. glutinis* apresentou aumento de 31% para o número de ramos vegetativos/reprodutivos e 37% na massa seca da parte aérea, e *R. aurantiaca* também apresentou aumento de 28% para o número de ramos vegetativos/reprodutivos. Conclui-se que as leveduras do ensaio não foram eficientes

para o controle de *C. truncatum* nas condições ensaiadas, no entanto, foram capazes de promover mecanismos de resistência e atuar na promoção de crescimento vegetal em plantas de soja.

Palavras-chave: agentes de biocontrole; *Colletotrichum truncatum*; *Glycine max;* leveduras antagonistas; mecanismos de ação.

ABSTRACT

KOHLER, Taís, R. State University of Western Paraná, in March 2026. **Yeasts and their effects on the biological management of anthracnose in soybeans and on the promotion of plant growth.** Advisor: Odair José Kuhn. Co-Advisors: Gilberto Costa Braga e Jeferson Carlos Carvalho.

Yeasts have proven to be a promising and sustainable strategy for disease management and plant growth promotion in agricultural systems. Therefore, the objective was to evaluate the potential of yeasts in the biological control of anthracnose and the effect of these yeasts on growth promotion in soybean plants. To this end, in vitro assays were performed to evaluate the effects of eight yeast species on mycelial growth and spore germination of *Colletotrichum truncatum*. In a greenhouse, assays were conducted to verify the effect of these yeasts on reducing the severity of anthracnose in soybeans, as well as the possible mechanisms related to plant defense involved. Finally, an assay was performed to analyze the growth promotion of soybean plants when treated with the yeasts. It was found that none of the eight yeasts interfered with the mycelial growth of *C. truncatum*. *Candida albicans* showed an average of 42.5% inhibition of conidia germination. The other yeasts did not inhibit the germination of *C. truncatum* conidia. Yeasts also did not reduce the severity of anthracnose in soybean plants under the assay conditions. However, *Rhodotorula glutinis* and *Pichia pini* were able to induce defensive metabolism in soybean plants, acting through different mechanisms of action, but not against *C. truncatum* under the assay conditions. *R. glutinis* increased polyphenol oxidase enzyme activity by 200%. *P. pini* induced β-1,3-glucanase enzyme activity by 98% after the presence of the pathogen. However, *Sporidiobolus johnsonii*, *Zygoascus hellenicus*, *R. glutinis*, and *Rhodotorula aurantiaca* induced promising increases in different agronomic variables related to plant growth. *S. johnsonii* increased the total number of trifoliate leaves by 31%, the number of flowers by 164%, the number of vegetative/reproductive branches by 45%, the shoot dry mass by 45%, the root volume by 114%, and the root fresh mass by 121%. Meanwhile, *Z. hellenicus* increased the number of vegetative/reproductive branches by 42%, the root volume by 90%, and the root fresh mass by 80%. *R. glutinis* showed a 31% increase in the number of vegetative/reproductive branches and a 37% increase in shoot dry mass, and *R. aurantiaca* also showed a 28% increase in the number of vegetative/reproductive branches. It is concluded that the yeasts in the assay were not efficient in controlling *C. truncatum* under the tested conditions;

however, they were able to promote resistance mechanisms and contribute to plant growth in soybean plants.

Keywords: biocontrol agents; *Colletotrichum truncatum*; *Glycine max*; antagonistic yeasts; mechanisms of action.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO II

Figura 1. Teor de proteínas solúveis totais em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*.....27
Figura 2. Atividade de peroxidase (POX) em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*.....27
Figura 3. Atividade de polifenoloxidase (PPO) em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*. 28
Figura 4. Atividade de fenilalanina amônia-liase (PAL) em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*. 29
Figura 5. Atividade de β-1,3-glucanase (GLU) em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*. 29
Figura 6. Teor de fenóis totais em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*. 30
Figura 7. Teor de lignina em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*. 30

ARTIGO III

Figura 1. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para o número de trifólios da haste central das plantas de soja (AACCV – NTH), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras. 48
Figura 2. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para o número de trifólios total das plantas de soja (AACCV – NT), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras. 48
Figura 3. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para o número de ramos vegetativos/reprodutivos das plantas de soja (AACCV – NR), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras. 49
Figura 4. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para a massa seca da parte aérea das plantas de soja (AACCV – MSA), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras. 49
Figura 5. Número de flores por planta de soja, aos 42 dias após a semeadura, em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras. 50

Figura 6. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para o volume de raízes das plantas de soja (AACCV – VR), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras.....51
Figura 7. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para a massa fresca das raízes das plantas de soja (AACCV – MFR), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras.....51
Figura 8. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para a massa seca das raízes das plantas de soja (AACCV – MSR), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras. 52

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

Tabela 1. Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *C. truncatum* em função dos tratamentos com diferentes filtrados de culturas de leveduras. 11

Tabela 2. Porcentagem de germinação de conídios de *C. truncatum* em função dos tratamentos com diferentes filtrados de culturas de leveduras. 11

Tabela 3. Porcentagem de inibição de germinação de conídios de *C. truncatum* em função dos tratamentos com diferentes filtrados de culturas de leveduras. 12

ARTIGO II

Tabela 1. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e Severidade Final, para os 1º e 2º trifólios de plantas de soja, quando tratadas com leveduras e inoculadas com *C. truncatum*. 26

ARTIGO III

Tabela 1. Número de vagens por planta aos 56 dias após a semeadura, número de vagens por planta no momento da colheita, peso de 100 grãos (g) e peso total de grãos (g) das plantas de soja, em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras. 52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL 1
2. ARTIGO I 6
LEVEDURAS E SEUS EFEITOS NO CRESCIMENTO MICELIAL E GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE *Colletotrichum truncatum IN VITRO* 6
RESUMO 6
ABSTRACT 6
INTRODUÇÃO 7
MATERIAL E MÉTODOS 8
RESULTADOS E DISCUSSÃO 10
CONCLUSÕES 13
REFERÊNCIAS 13
3. ARTIGO II 16
MODULAÇÃO DOS MECANISMOS DE DEFESA VEGETAL EM SOJA MEDIADOS POR LEVEDURAS 16
RESUMO 16
ABSTRACT 16
INTRODUÇÃO 17
MATERIAL E MÉTODOS 19
RESULTADOS E DISCUSSÃO 26
CONCLUSÕES 34
REFERÊNCIAS 34
4. ARTIGO III 41
PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE SOJA ATRAVÉS DA PULVERIZAÇÃO FOLIAR DE LEVEDURAS 41
RESUMO 41
ABSTRACT 41
INTRODUÇÃO 42
MATERIAL E MÉTODOS 43
RESULTADOS E DISCUSSÃO 47
CONCLUSÕES 54
REFERÊNCIAS 55
5. CONCLUSÕES GERAIS 59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 60

1. INTRODUÇÃO GERAL

A soja (*Glycine max* [L.] Merril) é uma planta originária do leste da Ásia e pertencente à família Fabaceae. Esta cultura tem grande importância no Brasil e no mundo pois apresenta características composicionais que proporcionam sua utilização para alimentação humana e animal, devido a sua rica composição em óleo vegetal e proteínas (SEDIYAMA; SILVA; BORÉM, 2015).

A soja é uma planta anual, ereta, herbácea, autógama, apresentando variabilidade para suas características morfológicas (MULLER, 1981). A planta de soja apresenta raiz pivotante com o desenvolvimento de raízes secundárias. Seu caule é constituído de nós e entrenós, sendo que em cada nó há uma folha e uma gema lateral que pode originar um racemo (inflorescência). Ao longo de seu desenvolvimento a soja apresenta três tipos de folhas, as cotiledonares, as unifolioladas e as trifolioladas que podem apresentar tamanho, formato e posicionamento diferentes. As flores aparecem em axilas ou racemos terminais, podendo ser brancas ou roxas. A vagem é achatada, reta a pouco curvada tendo comprimento de 2 a 7 cm, apresentando de uma a cinco sementes (NOGUEIRA et al., 2009).

Seu ciclo de desenvolvimento é dividido em duas fases, propostas por Fehr e Caviness (1977), sendo a fase vegetativa que compreende a emergência da cultura (VE) até a emissão da última folha trifoliolada (Vn) antes da abertura da primeira flor, e a fase reprodutiva, que se inicia na abertura da primeira flor (R1) até a plena maturação (R8). Esta cultura é extremamente exigente quanto as condições climáticas, necessitando de temperaturas entre 20 °C a 30 °C, alta luminosidade e precipitações bem distribuídas ao longo de todo o ciclo da cultura, variando entre 450 a 800 mm/ciclo para expressão de seu máximo potencial produtivo (NEUMAIER et al., 2020).

Diversos fatores podem interferir na expressão de potencial produtivo da cultura. As doenças podem afetar a cultura desde a germinação até o final do enchimento de grãos/sementes, e ser causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides. Estes danos anuais na produção são estimados entre 15% a 20%, entretanto, algumas doenças podem ocasionar danos de até 100% (HENNING et al., 2014; SEIXAS et al., 2020). Segundo Zambolin e Chaves (2012) uma doença de planta é o resultado de uma interação dinâmica e irreversível entre um patógeno virulento, um hospedeiro suscetível e um ambiente favorável, produzindo alterações fisiológicas e frequentemente morfológicas na planta, podendo resultar em danos.

A antracnose é uma das principais doenças fúngicas da cultura da soja. O agente etiológico mais frequentemente associado à antracnose da soja é *Colletotrichum truncatum*, um

fungo hemibiotrófico amplamente distribuído nas regiões produtoras (BOUFLEUR et al., 2021). Seu inóculo é proveniente de restos culturais e de sementes infectadas, podendo infectar a planta em qualquer estádio da cultura (SHARMA; GUPTA; RAMTEKE, 2011). A doença pode provocar a morte de plântulas, necrose nos pecíolos e nervuras e manchas necróticas em folhas, hastes e vagens. Lesões no caule e na vagem surgem a partir da floração, e nos estádios finais da cultura podem levar a queda total das vagens e deterioração das sementes em colheitas atrasadas (SHARMA; GUPTA; RAMTEKE, 2011; YANG; HAUDENSHIELD; HARTMAN, 2015; GRIGOLLI, 2015; GODOY et al., 2016).

O fungo *C. truncatum* produz conídios falcados e estruturas de sobrevivência, como microescleródios, que permitem sua persistência no solo e em resíduos culturais, atuando como fonte primária de inóculo (TIKAMI et al., 2023). A infecção inicia-se com a germinação dos conídios, formação de tubos germinativos e desenvolvimento de apressórios, estruturas especializadas que permitem a penetração nos tecidos vegetais (AMORIM; PASCHOLATI, 2018).

A germinação dos esporos e o crescimento micelial constituem etapas críticas no ciclo infeccioso deste patógeno. Durante o processo de colonização, o fungo secreta enzimas degradadoras da parede celular vegetal, como enzimas pectinolíticas, que facilitam a invasão dos tecidos hospedeiros (RAMOS, A. M., et al., 2010). Dessa forma, estratégias que interfiram nessas fases iniciais do desenvolvimento fúngico apresentam elevado potencial para reduzir a infecção e a severidade da doença.

Dentre as formas de manejo e controle da antracnose na soja podem-se citar o uso de sementes sadias, tratamento de sementes, rotação de culturas, aumento do espaçamento entre fileiras de 50 a 55 cm (maior arejamento das plantas), população adequada de plantas e manejo adequado da fertilidade (principalmente para a adubação potássica) (GODOY et al., 2016) e controle químico pelo uso de fungicidas (GRIGOLLI, 2015). Nesse contexto, o controle biológico tem emergido como uma alternativa sustentável, destacando-se o uso de microrganismos antagonistas.

O controle biológico de doenças visa a redução do inóculo ou das atividades determinantes de uma doença provocada por um patógeno, por meio da aplicação de um agente de biocontrole, nas plantas ou no solo, e através de relações antagônicas, estes agentes agem impedindo a infecção e o estabelecimento de patógenos (COOK; BAKER, 1983; MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018). O controle propriamente dito, pode resultar de interações diretas ou indiretas entre os microrganismos benéficos e os fitopatógenos, cujos mecanismos

de ação podem ser influenciados pelas condições ambientais e pela presença de outros microrganismos (MELLO et al., 2020).

Os agentes de biocontrole podem atuar por um ou mais mecanismos de ação, como antibiose, competição por espaço e nutrientes, parasitismo, indução de resistência e promoção do crescimento (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018; KOHL; KOLNAAR; RAVENSBERG, 2019). No processo de antibiose, microrganismos antagonistas sintetizam e secretam metabólitos secundários que inibem diretamente o crescimento ou a viabilidade de patógenos (NGUYEN et al., 2025). A competição por espaço e nutrientes, é dependente da maior velocidade do crescimento do microrganismo antagonista em relação ao patógeno, isto pode se dar no rápido crescimento ocupando todo o espaço do tecido foliar ou na rápida absorção dos nutrientes presentes no filoplano (LAHLALI et al., 2022).

Alguns microrganismos exibem parasitismo direto sobre estruturas do patógeno, se aderindo e colonizando as estruturas do patógeno, ou através da produção de enzimas hidrolíticas que degradam paredes celulares fúngicas (MUKHERJEE et al., 2012). Por sua vez, a indução de resistência em plantas ocorre quando sinais bioquímicos gerados pelo agente de biocontrole ativam vias de defesa da planta hospedeira, envolvidas na defesa ou relacionadas as alterações fisiológicas ou morfológicas que reduzem o progresso de infecção do patógeno (SAIJO; LOO; YASUDA, 2017).

Ainda, muitos microrganismos antagonistas promovem diretamente o crescimento vegetal, através da produção de hormônios, melhorando a absorção de água e nutrientes, favorecendo o desenvolvimento da planta e compensando os possíveis danos causados pelos patógenos (BISHT et al., 2025).

Dentre os agentes biológicos para controle de doenças em plantas, citam-se os fungos filamentosos, como *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma afroharzianum* e *Clonostachys rosea*; as bactérias *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus velezensis* e *Pseudomonas fluorescens* (BRASIL, 2026). As leveduras, também são consideradas agentes de controle biológico, porém não existem produtos registrados disponíveis no Brasil.

As leveduras são organismos eucarióticos, fungos unicelulares, não filamentosos, tipicamente esféricos ou ovais, ascomicetos ou basidiomicetos, podem se reproduzir por brotamento ou por fissão e podem apresentar hifas ou pseudo-hifas. Por serem amplamente difundidas na natureza e possuírem crescimento anaeróbico facultativo, podem sobreviver em vários ambientes (DIAS; SCHWAN, 2010; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). As leveduras estão presentes naturalmente na superfície dos órgãos vegetais e nos solos, portanto, são ativas

consumidoras de nutrientes e efetivas como colonizadoras de ferimentos (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2000). Diante disso, esses microrganismos desempenham funções importantes em muitos ecossistemas, contribuindo significativamente para a biodiversidade.

Leveduras antagonistas (também conhecidas como leveduras de biocontrole) podem inibir ou interferir no crescimento, desenvolvimento, reprodução ou atividade de fitopatógenos (ZHANG et al., 2020). Esses microrganismos possuem algumas características desejáveis que as tornam promissoras para utilização como agentes de controle biológico (DUKARE et al., 2019; FONTANA et al., 2021). Estas características incluem a não produção de esporos alergênicos e micotoxinas, que as tornam seguras ao consumidor (RAMOS, D. M. B., et al., 2010; SPADARO; DROBY, 2016). Além disso, são facilmente encontradas, não são exigentes em nutrientes e conseguem se reproduzir de forma rápida (HASSAN et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2011).

Os diferentes mecanismos de atuação das leveduras antagonistas utilizados para o controle biológico de patógenos de plantas são descritos por Freimoser et al. (2019), Zhang et al. (2020), Hernandez-Montiel et al. (2021), Herrera-Balandrano et al. (2023), Kupper, Moura e Paula (2023), Gogoi et al. (2024). Agrupando estas revisões, pode-se citar como mecanismos a competição por nutrientes e espaço, secreção de enzimas, produção de toxinas, liberação de compostos orgânicos voláteis, micoparasitismo e indução de resistência em plantas, destacando o potencial desse grupo de microrganismos como agentes de biocontrole.

Além disso, progressos consideráveis têm sido feitos em pesquisas que demonstram que o crescimento de plantas pode ser promovido por leveduras (HERNANDEZ-FERNANDEZ et al., 2021). Nos últimos anos, as leveduras ganharam importância na agricultura como agentes promotores do crescimento vegetal e são apropriadamente chamadas de leveduras promotoras do crescimento vegetal (PGPY). As PGPY são capazes de colonizar partes da planta e beneficiar seus hospedeiros por diferentes mecanismos de atuação. Elas podem atuar na solubilização de fosfatos e na mineralização de nitrogênio que melhora a fertilidade do solo, na produção de sideróforos que aumenta a resistência ao estresse abiótico e na inibição de patógenos vegetais garantindo maior resistência a doenças (DEVI et al., 2025; NIMSI et al., 2023; MOLLER, LERM, BOTHA, 2016). Alguns dos seus efeitos positivos podem ser devidos ao fornecimento de nutrientes solúveis e à produção de diferentes fitormônios e enzimas que contribuem diretamente para o crescimento das plantas, atuando como bioestimulantes (DEVI et al., 2025; HERNANDEZ-FERNANDEZ et al., 2021).

Leveduras antagônicas eficientes já foram relatadas contra vários patógenos que causam doenças em plantas (LIMTONG; INTO; ATTARAT, 2020; KHUNNAMWONG et al.,

2020; INTO et al., 2020; HASSAN et al., 2021; FERRAZ et al., 2021; ZHAO et al., 2022; IBRAHIM; HASSAN, 2023). Ainda, leveduras promotoras de crescimento vegetal eficientes já foram relatadas em diferentes espécies vegetais, como soja (HARIDY; EL-BAKI; FAWZY, 2022), milho (RAMOS-GARZA et al., 2023; SARABIA et al., 2018; ABDELAAL et al., 2017), feijão (BILEK; REZKI; BEKKI, 2022), feijão-preto (BRIGHT et al., 2022), alface (CABRINI; SALA; MAGRI, 2019), tomate-cereja (CHEN et al., 2022) e chá preto (KUMLA et al., 2020).

Diante do exposto, o controle biológico da antracnose em soja através do uso de leveduras antagonistas, bem como a promoção de crescimento de plantas de soja pode se tornar uma alternativa promissora e sustentável em futuros cultivos. Portanto, objetivou-se avaliar o potencial das leveduras no controle biológico da antracnose em soja, avaliando-se os efeitos no crescimento micelial e na germinação de esporos, bem como, avaliando-se a redução da severidade da doença e mecanismos indutores de resistência envolvidos. Ainda, avaliar o efeito destas leveduras na promoção de crescimento em plantas de soja.

2. ARTIGO I

LEVEDURAS E SEUS EFEITOS NO CRESCIMENTO MICELIAL E GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE *Colletotrichum truncatum IN VITRO*

YEASTS AND THEIR EFFECTS ON MYCELIAL GROWTH AND CONIDIA GERMINATION OF *Colletotrichum truncatum* IN VITRO

RESUMO

As leveduras antagonistas podem inibir ou interferir no crescimento, desenvolvimento, reprodução ou atividade de fitopatógenos, mostrando-se uma estratégia promissora para o manejo sustentável de doenças em plantas. Desta forma, objetivou-se verificar o efeito de isolados de leveduras na inibição do crescimento micelial e da germinação de conídios do fungo *Colletotrichum truncatum in vitro*. Os ensaios foram duplicados e para a condução, utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, contendo nove tratamentos, sendo oito filtrados de cultura de leveduras e um controle, divididos em três repetições. Avaliou-se o crescimento micelial do fungo em placas de Petri, e a germinação de conídios em lâminas de vidro. Posteriormente, calculou-se a área abaixo da curva de crescimento micelial e a porcentagem de inibição de germinação de esporos. As leveduras não interferiram no crescimento micelial do fungo fitopatogênico. A levedura *Candida albicans* apresentou em média 42,5% de inibição de germinação de conídios de *C. truncatum*. Ensaios futuros deverão verificar a eficiência desta levedura em outras espécies de fitopatógenos para comprovar a eficácia, bem como a possibilidade de utilização em sistemas agrícolas.

Palavras-chave: antagonismo; controle biológico; doenças em plantas; filtrados de leveduras; inibição de fitopatógenos.

ABSTRACT

Antagonistic yeasts can inhibit or interfere with the growth, development, reproduction, or activity of phytopathogens, proving to be a promising strategy for the sustainable management of plant diseases. Therefore, this study aimed to verify the effect of yeast isolates on the inhibition of mycelial growth and conidia germination of the fungus *Colletotrichum truncatum* in vitro. The assays were duplicated, and a completely randomized experimental design was used, containing nine treatments: eight yeast culture filtrates and one control, divided into three replicates. Mycelial growth of the fungus was evaluated in Petri dishes, and conidia germination

on glass slides. Subsequently, the area under the mycelial growth curve and the percentage of spore germination inhibition were calculated. The yeasts did not interfere with the mycelial growth of the phytopathogenic fungus. The yeast *Candida albicans* showed an average of 42.5% inhibition of *C. truncatum* conidia germination compared to the control treatment. Future trials should verify the efficiency of this yeast against other phytopathogen species to confirm its effectiveness, as well as the possibility of its use in agricultural systems.
Key words: antagonism; biological control; plant diseases; yeast filtrates; inhibition of phytopathogens.

INTRODUÇÃO

O biocontrole pode ser definido como a redução da presença de patógenos ou da atividade da doença pela introdução de um ou mais organismos antagonistas (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018). Essa estratégia tem surgido como uma alternativa promissora para tornar os alimentos mais seguros e sustentáveis. Entre os microrganismos utilizados para o biocontrole, citam-se diversas espécies de fungos filamentosos, bactérias e leveduras.

Leveduras antagonistas (também conhecidas como leveduras de biocontrole) referem-se a fungos com crescimento leveduriforme que podem inibir ou interferir no crescimento, desenvolvimento, reprodução ou atividade de fitopatógenos (ZHANG et al., 2020). Segundo Spadaro e Droby (2016), esses microrganismos demonstram capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais, além de não produzir esporos alergênicos ou micotoxinas. Ainda, as leveduras apresentam características que favorecem sua aplicação prática, como rápido crescimento, facilidade de produção em larga escala e maior estabilidade genética quando comparadas a fungos filamentosos (HERNANDEZ-MONTIEL et al., 2021). Essas características tornam esses microrganismos atrativos para utilização na agricultura.

O uso dessas leveduras antagonistas tem se destacado devido à sua eficiência, baixo impacto ambiental e múltiplos mecanismos de ação. Dentre os múltiplos mecanismos de ação das leveduras citam-se a competição por nutrientes e espaço, secreção de enzimas, produção de toxinas, liberação de compostos orgânicos voláteis, micoparasitismo e indução de resistência em plantas (SPADARO; DROBY, 2016; FREIMOSER, 2019; ZHANG et al., 2020; HERNANDEZ-MONTIEL et al., 2021).

A produção de enzimas hidrolíticas, como quitinases, β-1,3-glucanases e proteases, são capazes de degradar componentes estruturais da parede celular fúngica. Além disso, a competição por espaço e nutrientes, é um mecanismo que afeta o crescimento e o

desenvolvimento micelial do patógeno (SPADARO; DROBY, 2016; HERNANDEZ-MONTIEL et al., 2021). Ambos os mecanismos contribuem para a supressão de fitopatógenos pois interferem diretamente na fase inicial do ciclo de infecção. Visto que, a germinação de esporos, formação de estruturas de penetração e o crescimento micelial são etapas essenciais para o estabelecimento inicial da infecção (AMORIM; PASCHOLATI, 2018).

Dessa forma, a utilização de isolados de leveduras com atividade antagonista representa uma abordagem promissora para o manejo sustentável de fitopatógenos. Assim, objetivou-se avaliar o potencial de diferentes isolados de leveduras na inibição do crescimento micelial e da germinação de conídios do fungo *Colletotrichum truncatum* em condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

Os ensaios foram conduzidos duas vezes em condições de laboratório *in vitro*. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, contendo nove tratamentos e três repetições, totalizando 27 parcelas. Os tratamentos utilizados foram um controle (filtrado do meio de cultura) e oito isolados de leveduras da coleção de leveduras do Laboratório de Fitopatologia, das seguintes espécies*: Candida albicans* (AH 05-3), *Cryptococcus laurentii* (AH 17-2), *Pichia guilliermondii* (AH 16-2), *Pichia pini* (AH 15-3), *Rhodotorula aurantiaca* (AH 12-3), *Rhodotorula glutinis* (AH 19-1), *Sporidiobolus johnsonii* (AH 19-2) e *Zygoascus hellenicus* (AH 05-5).

CULTIVO E PREPARO DE SUSPENSÕES LEVEDURIFORMES

Conforme ensaios de Heling (2016), que isolou diferentes leveduras encontradas em filoplanos em folhas e flores de diversas espécies de plantas, e consequente, os ensaios já realizados por Kohler (2022), selecionou-se oito espécies que se mostraram eficientes no controle da antracnose em plantas de soja. Esses isolados de leveduras foram 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 ágar diluídos em 1000 mL de água destilada), cobertos com óleo mineral estéril e mantidos à 4 ºC em geladeira (GONÇALVES; ALFENAS; MAFIA, 2016). Os isolados foram retirados do preservado e cultivados em placas de Petri contendo meio ágar-YEPG (20 g glicose, 10 g peptona, 5 g extrato de levedura e 20 g ágar diluídos em 1000 mL de água destilada) e mantidos em câmara de incubação BOD (25 ºC com

12 horas de fotoperíodo) para crescimento e multiplicação. Para obtenção da cultura dos isolados, as leveduras foram repicadas do meio sólido em placas de Petri e cultivadas em meio YEPG líquido em frascos Erlenmeyer. As leveduras permaneceram sob agitação a 150 rpm por sete dias a aproximadamente 25 °C.

A partir de Erlenmeyers com as leveduras cultivadas com sete dias de crescimento, realizou-se o preparo dos filtrados de culturas leveduriformes. Para tanto, o meio de cultura com as células de leveduras foi filtrado em filtro de seringa (acetato de celulose estéril) 0,45 μm.

CULTIVO E PREPARO DE INÓCULO DO PATÓGENO

Para o inóculo do patógeno, discos com estruturas do *Colletotrichum truncatum* preservados em Castellani no laboratório, foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA (39 g de meio formulado Sigma-Aldrich diluído em 1000 mL de água destilada). O patógeno permaneceu em incubação na BOD (25 ºC com 12 horas de fotoperíodo) para crescimento e esporulação. A partir das placas de Petri cultivadas com 10 dias de crescimento, realizou-se o preparo da suspensão do patógeno, por meio da raspagem superficial do meio cultivado com auxílio de alça de Drigalski e água destilada estéril. Em seguida, o conteúdo foi filtrado, recolhido em béquer e homogeneizado, adicionando-se algumas gotas de polisorbato 20. Posteriormente, a suspensão dos esporos foi calibrada em Câmara de Neubauer a 1 x 10^5 conídios mL^{-1}.

ENSAIO DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO MICELIAL

Em placas de Petri contendo meio de cultura BDA foi depositado 100 μL do filtrado das leveduras. Com auxílio de uma alça de Drigalski este conteúdo foi distribuído homogeneamente sobre a superfície do meio de cultura. Em seguida, discos de 5 mm de diâmetro contendo estruturas do fungo *C. truncatum* cultivado em meio de cultura BDA por 10 dias, foram depositados sobre o centro da placa de Petri contendo o filtrado de levedura. As placas foram mantidas em câmara incubadora tipo BOD a 25 ºC, com fotoperíodo de 12 horas. Após 48 horas, iniciaram-se as avaliações de inibição de crescimento micelial, mensurando-se o diâmetro do crescimento fúngico. A mensuração consistiu na média obtida de duas medidas diametralmente opostas da colônia, com auxílio de uma régua milimetrada. As avaliações foram repetidas a cada 24 horas. Ao final das avaliações elaborou-se a curva de progresso de crescimento micelial e calculou-se a área abaixo da curva de progresso de crescimento micelial (AACCM), com apoio da equação adaptada de Shaner e Finney (1977).

ENSAIO DE INIBIÇÃO DE GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS

Para o ensaio de inibição da germinação de conídios, preparou-se placas de Petri contendo uma fina camada de meio de cultura AA (20 g de ágar Sinergia Científica diluído em 1000 mL de água destilada). O meio de cultura foi cortado com bisturi esterilizado em fragmentos de aproximadamente 1 cm^2.

Em caixas para germinação de sementes (tipo Gerbox) previamente desinfetadas com álcool 70%, depositou-se duas folhas de papel para germinação de sementes (tipo Germitest) estéril. O papel foi umedecido com água destilada estéril e sobre elas foi depositado dois fragmentos de palito de madeira (4 mm de diâmetro) estéril. Sobre estes palitos foram acondicionadas três lâminas de vidro, contendo um fragmento do meio de cultura AA. Em seguida, foram adicionados 75 uL da suspensão do filtrado de cultura das leveduras sobre o meio de cultura. Após, adicionou-se 25 uL da suspensão de esporos do *C. truncatum*. As caixas foram cobertas e encaminhadas para a câmara incubadora tipo BOD a 25 ºC, com fotoperíodo de 12 horas, por 12 horas para germinação dos conídios.

Decorrido o tempo, as caixas foram removidas da BOD e sobre as lâminas foi adicionada uma gota de corante lactofenol azul de algodão. As avaliações foram realizadas com auxílio de um microscópio óptico, contabilizando 50 conídios aleatoriamente. Eles foram classificados como germinados aqueles que possuíam tubo germinativo maior que 2/3 do tamanho do conídio, e não germinados aqueles que não emitiram o tubo germinativo ou menores que 2/3. Por fim, calculou-se a porcentagem de germinação e a de inibição de germinação de conídios.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) pelo teste F e quando significativos, submetidos a comparação de médias pelo teste Tukey, com níveis de 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso dos filtrados das culturas de leveduras não promoveu efeito significativo para a área abaixo da curva de crescimento micelial de *C. truncatum* nas condições avaliadas em nenhum dos ensaios (Tabela 1).

Tabela 1. Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *C. truncatum* em função dos tratamentos com diferentes filtrados de culturas de leveduras.

Tratamentos	AACCM	
	Experimento 1[ns]	Experimento 2[ns]
Controle	17,56	20,09
Candida albicans	17,72	18,66
Cryptococcus laurentii	19,88	19,53
Pichia guilliermondii	18,77	18,44
Pichia pini	19,46	18,54
Rhodotorula aurantiaca	18,98	18,83
Rhodotorula glutinis	16,14	19,80
Sporidiobolus johnsonii	14,07	18,77
Zygoascus hellenicus	20,12	18,43

[ns] - não significativo de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 19,27% (Exp. 1) e 7,77% (Exp. 2).

Houve efeito significativo para a porcentagem de germinação e inibição de germinação de conídios de *C. truncatum* em função dos tratamentos com os filtrados de culturas de leveduras, nas condições avaliadas nos ensaios (Tabela 2 e 3). A levedura *C. albicans* apresentou menor germinação de conídios e com isso maior porcentagem de inibição de germinação de conídios de *C. truncatum*, em relação ao tratamento controle, em ambos os ensaios. Porém, no primeiro ensaio, a levedura também se mostrou semelhante aos demais tratamentos.

Tabela 2. Porcentagem de germinação de conídios de *C. truncatum* em função dos tratamentos com diferentes filtrados de culturas de leveduras.

Tratamentos	% Germinação de conídios	
	Experimento 1*	Experimento 2*
Controle	85 a	81 a
Candida albicans	66 b	49 b
Cryptococcus laurentii	83 ab	76 a
Pichia guilliermondii	76 ab	80 a
Pichia pini	75 ab	80 a
Rhodotorula aurantiaca	81 ab	76 a
Rhodotorula glutinis	80 ab	77 a
Sporidiobolus johnsonii	76 ab	73 a
Zygoascus hellenicus	83 ab	72 a

* - Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 8,25% (Exp. 1) e 6,05% (Exp. 2).

Tabela 3. Porcentagem de inibição de germinação de conídios de *C. truncatum* em função dos tratamentos com diferentes filtrados de culturas de leveduras.

Tratamentos	% Inibição de germinação			
	Experimento 1*		Experimento 2*	
Controle	15	b	19	b
Candida albicans	34	a	51	a
Cryptococcus laurentii	17	ab	24	b
Pichia guilliermondii	24	ab	20	b
Pichia pini	25	ab	20	b
Rhodotorula aurantiaca	19	ab	24	b
Rhodotorula glutinis	20	ab	23	b
Sporidiobolus johnsonii	24	ab	27	b
Zygoascus hellenicus	17	ab	28	b

* - Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 29,95% (Exp. 1) e 16,53% (Exp. 2).

Nenhuma levedura interferiu no crescimento micelial do *C. truncatum* em ambos os ensaios. Resultados semelhante ao observado por Calixto (2020), em que as leveduras *C. albicans* (AH 05-3), *C. laurentii* (AH 17-2), *P. guilliermondii* (AH 16-2), *P. pini* (AH 15-3), *R. aurantiaca* (AH 12-3), *S. johnsonii* (AH 19-2) e *Z. hellenicus* (AH 05-5) também não interferiram no crescimento micelial do fungo. Ainda, Rodrigues et al. (2020) observaram que as leveduras *R. glutinis* e *P. guilliermondii* (AH 16-2) reduziram o desenvolvimento de *Colletotrichum musae* através da produção de compostos voláteis, porém nas condições do presente ensaio, não houve redução do crescimento micelial contra o *C. truncatum*.

A levedura *C. albicans* apresentou em média 42,5% de inibição de germinação de conídios de *C. truncatum*. Rodrigues et al. (2020) verificaram que a levedura *C. albicans* (AH 05-3) produz compostos voláteis com ação antifúngica, reduzindo o desenvolvimento de *C. musae in vitro*. No ensaio de Barabasz et al. (2020), a levedura *C. albicans* também apresentou menor crescimento micelial através da produção de compostos voláteis e redução de 67% na germinação de conídios de *Colletotrichum orbiculare*, em relação ao controle.

Navarro-Herrera e Ortíz-Moreno (2020) demonstraram que diferentes cepas de leveduras inibiram o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* de 27% a 54,8%. Lima et al. (2012) por sua vez, observaram que diferentes cepas de leveduras também proporcionaram redução significativa no crescimento micelial e na germinação de conídios de *C. gloeosporioides in vitro*, especialmente a espécie *Meyerozyma guilliermondii*. Liu et al. (2018) observaram que três isolados de *S. cerevisiae* testados produziram compostos antifúngicos e inibiram a germinação de conídios de *C. gloeosporioides*.

A redução do crescimento micelial e a germinação de conídios de *Colletotrichum* sp. observada nestes estudos pode estar associada à ação antagonista exercida pelas espécies de

leveduras. Uma vez que elas são capazes de produzir metabólitos antifúngicos, enzimas hidrolíticas e competir por nutrientes e espaço, interferindo diretamente no desenvolvimento inicial dos fitopatógenos. Adicionalmente, compostos voláteis e não voláteis produzidos por leveduras foram associados à supressão dos patógenos, através da redução do crescimento micelial.

Oelofse; Dubery e Berger (2008) observaram que a produção de exo-β-1,3-glucanase por leveduras inibiu a germinação de esporos e o crescimento micelial de *Colletotrichum lupini*. Liu et al. (2018) observaram que os isolados de *S. cerevisiae* eficientes para o controle *in vitro* de *C. gloeosporioides* produziram β-1,3-glucanase e quitinase. Bautista-Rosales et al. (2014) observaram que *C. laurentii* é capaz de produzir enzimas hidrolíticas (glucanase, NAGase e quitinase) *in vitro*. Estes últimos também identificaram através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) que a levedura *C. laurentii* se adere às hifas de *C. gloeosporioides*, demonstrando a competição por espaço e limitando o desenvolvimento fúngico. Esses estudos demonstram que leveduras antagonistas podem produzir quitinases e β-glucanases que comprometem a integridade da parede celular fúngica. Além disso, demonstram a competição por espaço e nutrientes, o que prejudica o desenvolvimento fúngico.

CONCLUSÕES

Nenhuma levedura interferiu no crescimento micelial de *C. truncatum* nas condições do ensaio.

A levedura *Candida albicans* (AH 05-3) apresentou em média 42,5% de inibição de germinação de conídios de *C. truncatum*.

REFERÊNCIAS

AMORIM, L.; PASCHOLATI, S. F. Ciclo das relações patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: volume 1 - princípios e conceitos**, 5ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. p. 45-70.

BARABASZ, R. F.; SILVA, R. H.; SUSTAKOWSKI, M. C.; KUHN, O. J.; CARVALHO, J. C.; ZIMMERMANN, J.; REIS, W.; STANGARLIN, J. R.; ZIMMERMANN, P. S. Evaluation of yeast potential in the biological control of *Colletotrichum orbiculare* in cucumber. **Journal of Agricultural Science**, v. 12, n. 10, p. 295-300, 2020.

BAUTISTA-ROSALES, P. U.; CALDERON-SANTOYO, M.; SERVIN-VILLEGAS, R.; OCHOA-ALVAREZ, N. A.; VAZQUEZ-JUAREZ, R.; RAGAZZO-SANCHEZ, J. A. Biocontrol action mechanisms of *Cryptococcus laurentii* on *Colletotrichum gloeosporioides* of mango. **Crop Protection**, v. 65, p. 194-201, 2014.

CALIXTO, G. B. **Leveduras no controle de *Colletotrichum truncatum* e seu efeito na produtividade da soja**. 2020. 51f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2020.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FREIMOSER, F. M.; RUEDA-MEJIA, M. P.; TILOCCA, B.; MIGHELI, Q. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, a. 154, 2019.

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**. Viçosa: Editora UFV, 2016. cap. 3, p. 93-105.

HELING, A. L. **Isolamento, identificação e avaliação do potencial de leveduras como agentes de proteção de plantas de feijoeiro ao crestamento bacteriano comum**. 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2016.

HERNANDEZ-MONTIEL; L. G.; DROBY, S.; PRECIADO-RANGEL, P.; RIVAS-GARCÍA, T.; GONZÁLEZ-ESTRADA, R. R.; GUTIÉRREZ-MARTÍNEZ, P.; ÁVILA-QUEZADA, G. D. A sustainable alternative for postharvest disease management and phytopathogens biocontrol in fruit: antagonistic yeasts. **Plants**, v. 10, n. 12, a. 2641, 2021.

KOHLER, T. R. **Leveduras: controle biológico de antracnose em soja e sensibilidade à fungicidas.** 2022. 61f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2022.

LIMA, J. R.; GONÇALVES, L. R. B.; BRANDÃO, L. R.; ROSA, C. A.; VIANA, F. M. P. Isolation, identification, and activity in vitro of killer yeasts against *Colletotrichum*

gloeosporioides isolated from tropical fruits. **Journal of Basic Microbiology**, v. 53, n. 7, p. 590-599, 2012.

LIU, Z.; DU, S.; REN, Y.; LIU, Y. Biocontrol ability of killer yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) isolated from wine against *Colletotrichum gloeosporioides* on grape. **Journal of Basic Microbiology**, v. 58, n. 1, p. 60-67, 2018.

MEDEIROS, F.H.V.; SILVA, J.C.P.; PASCHOLTI, S.F. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: volume 1 - princípios e conceitos**, 5ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. p. 261-274.

NAVARRO-HERRERA, Y. Y.; ORTIZ-MORENO, M. L. Yeast strains with antagonist activity against *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. and their phenotypic characterization. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, a. 29, 2020.

OELOFSE, D.; DUBERY, I.; BERGER, D. K. Exo-β-1,3-Glucanase from Yeast Inhibits *Colletotrichum lupini* and *Botrytis cinerea* Spore Germination. **Journal of Phytopathology**, v. 157, n. 1, p. 1-6, 2008.

RODRIGUES, C. B.; BARABASZ, R. F.; SILVA, R. H.; SUSTAKOWSKI, M. C.; KUHN, O. J.; CARVALHO, J. C.; ZIMMERMANN, J.; REIS, W.; OLIVEIRA, V. H. D.; KEMPA, A. K.; STANGARLIN, J. R. Yeast potential for the biological control of *Colletotrichum musae.* **Journal of Agricultural Science**, v. 12, n. 10, p. 301-306, 2020.

SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, v. 67, p. 1051-1056, 1977.

SPADARO, D.; DROBY, S. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. **Trends in Food Science & Technology**, v. 47, p. 39-49, 2016.

ZHANG, X.; LI, B.; ZHANG, Z.; CHEN, Y.; TIAN, S. Antagonistic yeasts: a promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 3, a. 158, 2020.

3. ARTIGO II

MODULAÇÃO DOS MECANISMOS DE DEFESA VEGETAL EM SOJA MEDIADOS POR LEVEDURAS

YEAST-MEDIATED MODULATION OF PLANT DEFENSE MECHANISMS IN SOYBEAN

RESUMO

A presença das leveduras na superfície de vegetais têm demonstrado a capacidade de modular alguns mecanismos de indução de resistência em plantas, mostrando-se uma alternativa promissora no controle biológico de doenças. Desta forma, objetivou-se verificar o efeito de isolados de leveduras na redução da severidade e na indução de resistência contra a antracnose em plantas de soja, avaliando-se alguns possíveis mecanismos de defesa envolvidos. Para ambos os ensaios, utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, contendo nove tratamentos, sendo oito isolados de leveduras e um controle, divididos em quatro repetições. O segundo ensaio também envolveu dois períodos de coleta de material vegetal: 3 dias após aplicação dos tratamentos (momento da inoculação) e 3 dias após inoculação do patógeno *Colletotrichum truncatum*. Avaliou-se no primeiro ensaio a severidade da doença e no segundo, a atividade das enzimas relacionadas a defesa, como, peroxidase, polifenoloxidase, fenilalanina amônia-liase, β-1,3-glucanase, e a determinação de fenóis totais, lignina e proteínas solúveis totais nas plantas de soja. As leveduras não reduziram a severidade da doença. A levedura *Rhodotorula glutinis* incrementou em 200% a atividade da enzima polifenoloxidase com o tratamento. *Pichia pini* induziu em 98% a atividade da β-1,3-glucanase após a presença do patógeno. Estas leveduras são capazes de induzir o metabolismo defensivo em plantas de soja, porém não contra *C. truncatum* nas condições do experimento. Atuam em diferentes mecanismos de ação, mostrando-se como alternativa para se aprofundar os estudos no controle biológico de doenças em plantas de soja.

Palavras-chave: *Colletotrichum truncatum*, controle biológico, enzimas de defesa, *Glycine max* L., indução de resistência.

ABSTRACT

The presence of yeasts on the surface of plants has demonstrated the ability to modulate some resistance induction mechanisms in plants, showing itself as a promising alternative in the

biological control of diseases. Therefore, the objective was to verify the effect of yeast isolates on reducing the severity and inducing resistance against anthracnose in soybean plants, evaluating some possible defense mechanisms involved. For both trials, a completely randomized experimental design was used, containing nine treatments, with eight yeast isolates and one control, divided into four replicates. The second trial also involved two periods of plant material collection: 3 days after treatment application (time of inoculation) and 3 days after inoculation with the pathogen *Colletotrichum truncatum*. The first trial evaluated disease severity, and the second evaluated the activity of defense-related enzymes, such as peroxidase, polyphenol oxidase, phenylalanine ammonia-lyase, β-1,3-glucanase, and the determination of total phenols, lignin, and total soluble proteins in soybean plants. The yeasts did not reduce disease severity. The yeast *Rhodotorula glutinis* increased polyphenol oxidase enzyme activity by 200% with treatment. *Pichia pini* induced β-1,3-glucanase activity by 98% after the presence of the pathogen. These yeasts are capable of inducing defensive metabolism in soybean plants, but not against *C. truncatum* under the experimental conditions. They act through different mechanisms of action, showing themselves as an alternative for further studies on the biological control of diseases in soybean plants.

Key words: *Colletotrichum truncatum*, biological control, defense enzymes, *Glycine max* L., resistance induction.

INTRODUÇÃO

O controle biológico de doenças com foco na exploração de microrganismos antagônicos atuando como agentes de controle biológico têm sido uma estratégia eficaz e sustentável para o controle de doenças de plantas. Este método de controle visa a redução do inóculo ou dos fatores determinantes de uma doença provocada por um agente patogênico. O controle da doença neste método se dá por meio da aplicação de um agente de controle biológico, seja nas plantas ou no solo, que agem impedindo a infecção e o estabelecimento de patógenos através de relações antagônicas (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018). O controle da doença pode resultar de interações diretas ou indiretas entre o microrganismo benéfico e o patogênico.

Os agentes de controle biológico (ACBs) podem atuar por um ou mais mecanismos antagônicos na superfície vegetal. Estes mecanismos incluem a emissão de compostos orgânicos voláteis (COVs), secreção de antibióticos, produção de enzimas líticas de parede celular, competição por nutrientes e espaço, parasitismo, predação, indução de resistência

localizada e sistêmica em plantas hospedeiras e através da promoção do crescimento vegetal (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018; GHORBANPOUR et al., 2018; TARIQ et al., 2020). No entanto, os mecanismos antagônicos podem ser influenciados pelas condições ambientais e pela presença de outros microrganismos na superfície vegetal (MELLO et al., 2020).

Os microrganismos associados às plantas, tanto epífitas quanto endófitas, são fontes de possíveis agentes de controle biológico (BARRERA; SARANGO-FLORES; MONTENEGRO-GÓMEZ, 2019; LIMTONG; INTO; ATTARAT, 2020). Dessa forma, explorar a diversidade de filoplanos vegetais que prosperam em condições semelhantes aos presentes nos sistemas de cultivo pode ser promissor. Isto porque os microrganismos da filosfera estão sujeitos a fatores abióticos (condições climáticas, localização geográfica, propriedades físicas e químicas da folha) e fatores biológicos (estrutura morfológica da filosfera, características fisiológicas e bioquímicas, e espécies e variedades de plantas) (HUANG; ZHA; FU, 2023). Estes fatores podem selecionar microrganismos dominantes e com potencial para uso como agentes de controle biológico.

As leveduras são amplamente difundidas na natureza e estão presentes naturalmente na superfície dos órgãos vegetais e dos solos (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2000). Esses microrganismos possuem algumas características desejáveis que as tornam promissoras para utilização como ACBs (DUKARE et al., 2019; FONTANA et al., 2021). Estas características incluem a não produção de esporos alergênicos e micotoxinas, que as tornam seguras ao consumidor. Além disso, são facilmente encontradas, não são exigentes em nutrientes e conseguem se reproduzir de forma rápida (HASSAN et al., 2021).

Leveduras antagônicas eficientes já foram relatadas contra vários patógenos que causam doenças em plantas (BARABASZ et al., 2020; LIMTONG; INTO; ATTARAT, 2020; KHUNNAMWONG et al., 2020; INTO et al., 2020; HASSAN et al., 2021; FERRAZ et al., 2021; ZHAO et al., 2022; IBRAHIM; HASSAN, 2023). Os diferentes mecanismos de atuação das leveduras utilizados para o controle biológico de patógenos de plantas são descritos por Freimoser et al. (2019), Zhang et al. (2020), Hernandez-Montiel et al. (2021), Herrera-Balandrano et al. (2023), Kupper, Moura e Paula (2023), Gogoi et al. (2024), destacando o potencial desse grupo de microrganismos como agentes de biocontrole. Dentre esses mecanismos, cabe destacar a atuação na indução de resistência em plantas. Freimoser et al. (2019) em sua revisão, relatam o uso de diferentes espécies de leveduras como indutoras de resistência para uma ampla gama de patógenos em diferentes culturas.

Visando sanar os problemas fitossanitários dos cultivos e reduzir o impacto negativo do uso de produtos fungicidas, o controle biológico torna-se uma alternativa sustentável. Em um estudo anterior, observou-se que algumas leveduras podem reduzir significativamente a severidade da antracnose, alcançando valores de 15% a até 80% (KOHLER, 2022). Portanto, selecionou-se oito espécies de leveduras para explorar possíveis mudanças nos mecanismos de defesa da soja através da indução de resistência. Sendo assim, este estudo tem por objetivo verificar a eficiência na redução da severidade da antracnose e avaliar o potencial das leveduras na promoção da indução de resistência em plantas de soja desafiadas com *Colletotrichum truncatum*, para identificar potenciais isolados de leveduras para uso em cultivos como alternativa para o manejo da doença.

MATERIAL E MÉTODOS

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação climatizada, com programação de temperatura de 25 ºC e turno de rega a cada hora por 40 segundos com aspersão. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, contendo nove tratamentos e quatro repetições, totalizando 36 parcelas. Para o segundo ensaio, os tratamentos e repetições foram os mesmos, com adição de dois períodos de coleta de material vegetal, sendo delineados em esquema fatorial. Os tratamentos utilizados foram um controle (somente meio de cultura) e oito isolados de leveduras da coleção de leveduras do Laboratório de Fitopatologia, das seguintes espécies*:* *Candida albicans* (AH 05-3), *Cryptococcus laurentii* (AH 17-2), *Pichia guilliermondii* (AH 16-2), *Pichia pini* (AH 15-3), *Rhodotorula aurantiaca* (AH 12-3), *Rhodotorula glutinis* (AH 19-1), *Sporidiobolus johnsonii* (AH 19-2) e *Zygoascus hellenicus* (AH 05-5).

CULTIVO E PREPARO DE SUSPENSÕES LEVEDURIFORMES

Conforme ensaios de Heling (2016), que isolou diferentes leveduras encontradas em filoplanos em folhas e flores de diversas espécies de plantas, e consequente, os ensaios já realizados por Kohler (2022), selecionou-se oito espécies com potencial para controle de antracnose em plantas de soja. Esses isolados de leveduras foram 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 ágar diluídos em 1000 mL de água destilada), cobertos com óleo mineral estéril e mantidos à 4 ºC em geladeira (GONÇALVES; ALFENAS; MAFIA,

2016). Os isolados foram retirados do preservado e cultivados em placas de Petri contendo meio ágar-YEPG (20 g glicose, 10 g peptona, 5 g extrato de levedura e 20 g ágar diluídos em 1000 mL de água destilada) e mantidos em câmara de incubação BOD (25 ºC com 12 horas de fotoperíodo) para crescimento e multiplicação. Para obtenção da cultura dos isolados, as leveduras foram repicadas do meio sólido em placas de Petri e cultivadas em meio YEPG líquido em frascos Erlenmeyer. As leveduras permaneceram sob agitação a 150 rpm por sete dias a aproximadamente 25 °C.

A partir de Erlenmeyers com as leveduras cultivadas com sete dias de crescimento, realizou-se o preparo das suspensões de culturas leveduriformes, diluindo-se 2 mL de cada cultivo em béqueres contendo 100 mL de água destilada (proporção 2%), cujo béquer foi levemente agitado para completa homogeneização das suspensões. Posteriormente, as suspensões de cada uma das leveduras foram aferidas com auxílio de Câmara de Neubauer, correspondendo a 2 x 10^7 UFC mL^{-1}.

CULTIVO E PREPARO DE INÓCULO DO PATÓGENO

Para o inóculo do patógeno, discos com estruturas do *C. truncatum* preservados em Castellani no laboratório, foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA (39 g de meio formulado Sigma-Aldrich diluído em 1000 mL de água destilada). O patógeno permaneceu em incubação na BOD (25 ºC com 12 horas de fotoperíodo) para crescimento e esporulação. A partir das placas de Petri cultivadas com 10 dias de idade, realizou-se o preparo da suspensão do patógeno, por meio da raspagem superficial do meio cultivado com auxílio de alça de Drigalski e água destilada estéril. Em seguida, o conteúdo foi filtrado, recolhido em béquer e homogeneizado, adicionando-se algumas gotas de polisorbato 20. Posteriormente, a suspensão dos esporos foi calibrada a 1 x 10^6 conídios mL^{-1} em Câmara de Neubauer.

ENSAIO PARA AVALIAÇÃO DE SEVERIDADE DE DOENÇA

Sementes de soja da cultivar BMX 58i60 RSF IPRO foram semeadas em vasos de polipropileno com capacidade para 5,5 L, contendo como substrato a mistura de solo, areia e matéria orgânica, na proporção 3:1:1. Foram semeadas quatro sementes de soja por vaso, e após a germinação foram mantidas apenas duas plantas por vaso. Após o desbaste foi adicionado palhada de capim Tifton seco sobre a superfície do solo nos vasos.

As plantas de soja receberam a pulverização foliar dos tratamentos quando apresentavam os dois primeiros trifólios expandidos (estádio fenológico V3), aos 21 dias após a semeadura. Foi realizada a aplicação dos tratamentos controle e das culturas das leveduras

(células + meio de cultura diluídos em água destilada), previamente aferidas à no mínimo 2 x 10^7 UFC mL^{-1}. Aplicou-se aproximadamente 0,5 mL no primeiro trifólio de cada planta, com auxílio de um borrifador manual, tomando-se o devido cuidado para não chegar ao nível de escorrimento. As plantas de soja foram mantidas nas condições de casa de vegetação. Decorridos três dias após a aplicação dos tratamentos, realizou-se a inoculação do patógeno *C. truncatum*, cuja suspensão de esporos foi previamente ajustada a 1 x 10^6 conídios mL^{-1}, sendo novamente aplicados aproximadamente 1 mL nos dois primeiros trifólios de cada planta, também utilizando borrifador manual. Após a inoculação, as plantas de soja permaneceram envolvidas por um saco plástico, por 12 horas a aproximadamente 25 ºC, para criar condição de uma câmara úmida. Após, foram mantidas na casa de vegetação.

Decorridos quatro dias após a inoculação do patógeno, iniciou-se a avaliação da severidade de doença, avaliando-se a porcentagem de área lesionada nos dois primeiros trifólios (trifólio com tratamento e inoculado, e o trifólio apenas inoculado) com base na escala diagramática de Dalla Pria et al. (1999). Os dois primeiros trifólios das duas plantas de soja em cada repetição foram avaliados a cada quatro dias, durante 20 dias após a inoculação. Ao final das avaliações elaborou-se a curva de progresso da doença e calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), com apoio da equação adaptada de Shaner e Finney (1977).

ENSAIO PARA AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS

Sementes de soja da cultivar BMX 58i60 RSF IPRO foram semeadas em copos de poliestireno expandido com capacidade para 0,5 L, contendo como substrato a mistura de solo, areia e matéria orgânica, na proporção 3:1:1, previamente esterilizado em autoclave vertical por 1 h a 120 ºC a 1 atm. Foram semeadas três sementes de soja por copo, e após a germinação foi mantida apenas uma planta por copo.

As plantas de soja receberam a pulverização foliar dos tratamentos quando o primeiro trifólio estava completamente expandido (estádio fenológico V2), aos 15 dias após a semeadura. Foi realizada a aplicação dos tratamentos controle e das culturas das leveduras da mesma forma que o ensaio anterior. Decorridos três dias após a aplicação dos tratamentos, realizou-se a inoculação do patógeno *C. truncatum*, também seguindo a mesma forma que o ensaio anterior.

As coletas das amostras do trifólio expandido das plantas de soja de cada tratamento foram realizadas em dois períodos: 3 dias após a aplicação dos tratamentos (momento da inoculação) e 3 dias após a inoculação do patógeno (6 dias após aplicação dos tratamentos). Coletou-se apenas o primeiro trifólio expandido das plantas, dividindo-os em duas amostras, sendo uma com o folíolo central e a outra com os folíolos laterais. As amostras coletadas foram

identificadas, pesadas, embaladas em papel alumínio e acondicionadas em caixa térmica contendo gelo. Finalizada cada coleta, as amostras foram transportadas para o laboratório e armazenadas em freezer (-20 ºC) para análises posteriores.

Obtenção do Extrato Aquoso de Tecido Vegetal

As amostras com o folíolo central foram trituradas com 4 mL de solução tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0) e aproximadamente 0,02 g de polivinilpirrolidona (PVP) em almofariz de porcelana previamente refrigerado. O homogeneizado foi centrifugado a 20.000*g* durante 20 min a 4 ºC. O sobrenadante obtido, considerado como extrato aquoso de tecido vegetal, foi armazenado em micro tubos com capacidade para 2 mL, sendo congelados a -20 ºC. Este extrato proteico foi utilizado para determinar o teor de proteínas solúveis totais e a atividade enzimática.

Proteínas solúveis totais

Para determinação do conteúdo total de proteínas solúveis nas amostras utilizou-se o método de Bradford (1976). A reação consistiu em 75 µL da amostra (sobrenadante), 1.125 mL de tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0) e 300 µL de reagente de Bradford (125 mg de corante Coomassie Brilliant Blue G-250, 62,5 mL de álcool etílico 95%, 125 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4) e água destilada para completar 250 mL). Após a adição da amostra proteica em tubos de borosilicato de vidro contendo o tampão fosfato de sódio 0,01 M, o reagente de Bradford foi adicionado sob agitação com auxílio de agitador de tubos vórtex. As amostras foram incubadas em temperatura ambiente por 10 min, sendo em seguida, realizada a leitura de absorbância em espectrofotômetro a 595 nm. Cada amostra foi submetida a análise em triplicata. A concentração de proteínas solúveis foi expressa em termos equivalentes de µg de albumina de soro bovino (ASB) por mL de amostra (µg proteína mL^{-1}), utilizando-se curva padrão de concentrações de ASB ($y = 0,0409x + 0,0029$; $R^2 = 0,9961$), variando de 0 a 20 µg mL^{-1}.

Atividade enzimática

Para a atividade de peroxidase (POX) utilizou-se o método espectrofotométrico direto (HAMMERSCHIMDT, NUCLES; KUĆ, 1982), cuja solução para a reação constituía-se de 2,9 mL do substrato para enzima (306 µL de peróxido de hidrogênio, 250 µL de guaiacol puro e 100 mL de tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0)) e 100 µL da amostra (sobrenadante). A reação foi determinada a 30 ºC, sendo conduzida em espectrofotômetro a 470 nm pelo período

de 90 segundos, anotando-se o valor de absorbância a cada 15 segundos. Posteriormente, calculou-se a média da variação da atividade de peroxidase em 15 segundos e em seguida extrapolando-se para um minuto. A atividade da enzima foi expressa em absorbância min^{-1} mg^{-1} de proteína.

Para determinação da atividade da polifenoloxidase (PPO) utilizou-se a metodologia de Duangmal e Apenten (1999). A solução para a reação constituía-se de 2,7 mL do substrato (110,1 mg de catecol diluído em 50 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 6,8), formando uma solução de catecol de 0,02 M) e 300 µL da amostra (sobrenadante). A reação foi determinada a 30 ºC, sendo conduzida em espectrofotômetro a 420 nm pelo período de 90 segundos, anotando-se o valor de absorbância a cada 15 segundos. Posteriormente, calculou-se a média da variação da atividade de polifenoloxidase em 15 segundos e em seguida extrapolando-se para um minuto. A atividade da enzima foi expressa em absorbância min^{-1} mg^{-1} de proteína.

Para a atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) utilizou-se a metodologia descrita por Umesha (2006), sendo determinada através da quantificação colorimétrica do ácido *trans*-cinâmico liberado do substrato fenilalanina. A solução para reação constituiu-se de 150 µL da amostra (sobrenadante), 600 µL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8) e 750 µL da solução de L-fenilalanina 0,05 M (825,9 mg de L-fenilalanina diluído em 100 mL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8)). Para cada amostra também foi preparado um controle o qual continha 150 µL da amostra e 1,35 mL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8) sem fenilalanina. A reação foi incubada a 40 ºC por 2 h, sendo em seguida, adicionados 90 µL de ácido clorídrico (HCl) 5 M para cessar a reação. Após, realizou-se a leitura de absorbância em espectrofotômetro a 290 nm. A concentração de ácido *trans*-cinâmico foi expressa em termos de equivalentes de µg ácido *trans*-cinâmico por mL de amostra (µg ácido *trans*-cinâmico mL^{-1}), utilizando-se curva padrão de concentrações de ácido *trans*-cinâmico ($y = 0,0775x - 0,0136$; $R^2 = 0,9971$), variando de 0 a 15 µg mL^{-1}. A atividade de fenilalanina amônia-liase foi calculada através da diferença entre as amostras incubadas com e sem o substrato L-fenilalanina 0,05 M, sendo expressa em µg ácido *trans*-cinâmico $hora^{-1}$ mg $proteína^{-1}$.

Para a determinação da atividade de β-1,3-glucanase (GLU) utilizou-se o método indireto por meio da determinação de açúcares redutores, utilizando-se como substrato a laminarina. A solução para a reação constituiu-se de 150 µL da amostra (sobrenadante) e 150 µL da solução de laminarina (2 mg mL^{-1}). Para cada amostra também foi preparado um controle o qual continha apenas 150 µL da amostra sem a presença de laminarina. Os tubos de borosilicato de vidro foram incubados a 40 ºC por 1 h. Posteriormente, adicionou-se 150 µL da

solução de laminarina na amostra controle. Em seguida, para a determinação dos açúcares redutores foi utilizada a metodologia descrita por Lever (1972). Para a reação separou-se alíquotas de 60 µL de cada amostra, bem como de seu tubo controle e adicionou-se 3,0 mL da solução de PAHBAH (0,5 g de hidrazida do ácido *p*-hidróxibenzoico diluído em 20 mL de ácido clorídrico (HCl) 0,5 M e adicionando-se 80 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 0,5 M), permanecendo incubado em banho-maria a 100 °C por 10 min. Após o resfriamento acelerado utilizando água com gelo até atingir a temperatura ambiente (≅ 25 °C), realizou-se a leitura de absorbância em espectrofotômetro a 410 nm. A concentração de açúcares redutores foi expressa em termos de equivalentes de µg glicose por mL de amostra (µg glicose mL^{-1}), utilizando-se curva padrão de concentrações de glicose ($y = 0,0026x + 0,0080$; $R^2 = 0,9993$), variando de 0 a 500 µg mL^{-1}. Posteriormente, a atividade da β-1,3-glucanase foi calculada a partir da diferença entre os açúcares redutores nas amostras antes e após a incubação, sendo expressa em µg glicose min^{-1} mg proteína^{-1}.

Obtenção do Extrato Metanólico e Resíduo

As amostras com os folíolos laterais foram trituradas com 3 mL de metanol 80% em almofariz de porcelana. O conteúdo total do almofariz foi transferido para microtubos de 2 mL (tipo Eppendorf) e centrifugado a 12.000*g* por 5 min. O sobrenadante obtido (extrato metanólico) foi transferido para outro microtubo de 2 mL e armazenado a -20 ºC para determinação de fenóis totais.

O resíduo obtido após a retirada do sobrenadante foi utilizado para determinação de lignina. Para isso, adicionou-se 1,5 mL de água destilada ao resíduo, homogeneizado com auxílio de vórtex e centrifugado a 12.000*g* por 5 min. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi seco a 65 ºC por aproximadamente 60 horas, posteriormente armazenado para determinação da lignina.

Fenóis Totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados pipetando-se 150 µL do extrato metanólico previamente diluído dez vezes (1:10) em metanol 80%, misturando-se 150 µL do reagente Folin-Ciocalteau 0,25N e mantido em temperatura ambiente por 5 min, adicionando-se então 150 µL de carbonato de sódio 1M, sendo homogeneizado e mantido em temperatura ambiente por 10 min. A mistura então foi homogeneizada com 1,0 mL de água destilada e mantida em temperatura ambiente por uma hora. A absorbância da reação foi lida em espectrofotômetro a 725 nm. Os valores de absorbância foram calculados com base em curva

padrão de concentrações de pirocatecol (y = 0,0120x + 0,0369; R^2 = 0,9833), variando de 0 a 100 μg mL^{-1}. Os compostos fenólicos totais foram expressos em equivalente mg de pirocatecol g^{-1} de tecido fresco (adaptado de RODRIGUES et al., 2005).

Lignina

A determinação de lignina foi conduzida a partir do resíduo lavado e seco do extrato metanólico. O resíduo seco insolúvel em álcool, contendo lignina e ácidos fenólicos esterificados da parede celular, foi utilizado para determinação de lignina, conforme metodologia de Barber e Ride (1988). Para tanto, 1,5 mL de solução contendo ácido tioglicólico e ácido clorídrico 2M, na proporção de 1:10, foi adicionada ao resíduo. Os microtubos foram levemente agitados para hidratar o resíduo e então levados a banho-maria a 100 ºC por 4 horas. Após este período os microtubos foram colocados em gelo para resfriarem rapidamente por 10 min e então centrifugados a 12.000*g* por 10 min. O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado com 1,5 mL de água destilada e novamente centrifugado a 12.000*g* por 10 min. Após isto, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspenso em 1,5 mL de NaOH 0,5 M, sendo a mistura agitada em agitador rotativo por 16 horas em temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 10.000*g* por 10 min e o sobrenadante foi transferido para outro microtubos e neste adicionado 200 μL de HCl concentrado ao sobrenadante e mantido em câmara fria (4 ºC) por quatro horas para permitir a precipitação da lignina ligada ao ácido tioglicólico. A seguir, a mistura foi centrifugada a 10.000*g* por 10 min, o sobrenadante descartado e o precipitado ressuspenso em 2 mL de NaOH 0,5 M. A solução foi previamente diluída 20 vezes (1:20) com NaOH 0,5M para leitura em espectrofotômetro a 280 nm. Os valores de absorbância foram calculados com base em curva padrão de concentrações de lignina (y = 0,0093x + 0,0002; R^2 = 0,9997), variando de 0 a 100 μg mL^{-1}. Os resultados foram expressos em mg de lignina g^{-1} de tecido fresco (adaptado de RODRIGUES et al., 2005).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) pelo teste F e quando significativos, submetidos a comparação de médias pelo teste Tukey, com níveis de 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o ensaio de severidade de doença não houve efeito significativo para a AACPD e nem para a severidade final, para os diferentes trifólios, em função dos tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e Severidade Final, para os 1º e 2º trifólios de plantas de soja, quando tratadas com leveduras e inoculadas com *C. truncatum*.

Tratamento	AACPD		Severidade Final (%)	
	1º Trifólio^{ns}	2º Trifólio^{ns}	1º Trifólio^{ns}	2º Trifólio^{ns}
Testemunha	8,07	4,97	1,75	0,70
Candida albicans	11,16	4,48	3,66	0,88
Cryptococcus laurentii	9,65	5,39	2,92	0,94
Pichia guilliermondii	11,65	5,66	3,68	0,77
Pichia pini	8,61	4,95	2,86	0,61
Rhodotorula aurantiaca	8,96	12,23	2,86	3,64
Rhodotorula glutinis	8,66	7,54	2,99	1,64
Sporidiobolus johnsonii	10,68	5,27	2,92	0,77
Zygoascus hellenicus	11,45	3,35	4,02	0,54

^{ns} – médias não significativas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 29,66% (AACPD 1º Trifólio), 31,45% (AACPD 2º Trifólio), 47,50% (Severidade Final 1º Trifólio) e 36,92% (Severidade Final 2º Trifólio). Dados transformados utilizando a equação: $\sqrt{(x+0,5)}$.

Para as proteínas solúveis totais houve efeito significativo em função dos tratamentos, aos 3 dias após o tratamento (Figura 1). O tratamento com a levedura *C. albicans* apresentou maior teor de proteína em relação a levedura *R. aurantiaca*. Ainda, houve efeito em função dos tempos de coleta para esta última levedura, que apresentou incremento de 67% no teor de proteínas solúveis totais aos 6 dias após o tratamento, correspondendo a presença do patógeno.

A atividade de peroxidase (POX) apresentou efeito significativo em função dos tempos de coleta para o controle, e as leveduras *C. albicans*, *P. guilliermondii* e *P. pini* (Figura 2). Nestes casos, houve aumento na atividade da enzima com a presença do patógeno, indicando que o efeito se deu em decorrência do processo infeccioso. Para as demais leveduras não houve efeito significativo entre os tempos de coleta, o que permite dizer que estas leveduras interferiram na expressão da atividade desta enzima após a chegada do patógeno, impedindo seu aumento. Nestes casos, essas interações podem ter priorizado o investimento metabólico em outro mecanismo de defesa durante o processo infeccioso, mantendo a atividade normal desta enzima.

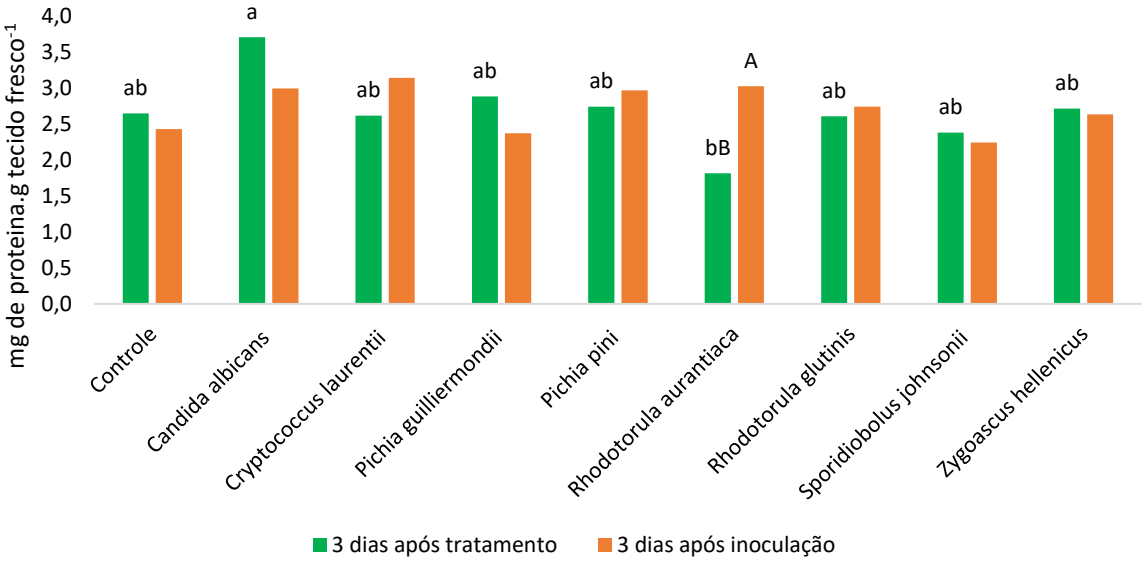

Figura 1. Teor de proteínas solúveis totais em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*.
Letras minúsculas diferem entre si entre os tratamentos em cada tempo de coleta, e letras maiúsculas diferem entre si o tempo de coleta para cada tratamento, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 24,29%.

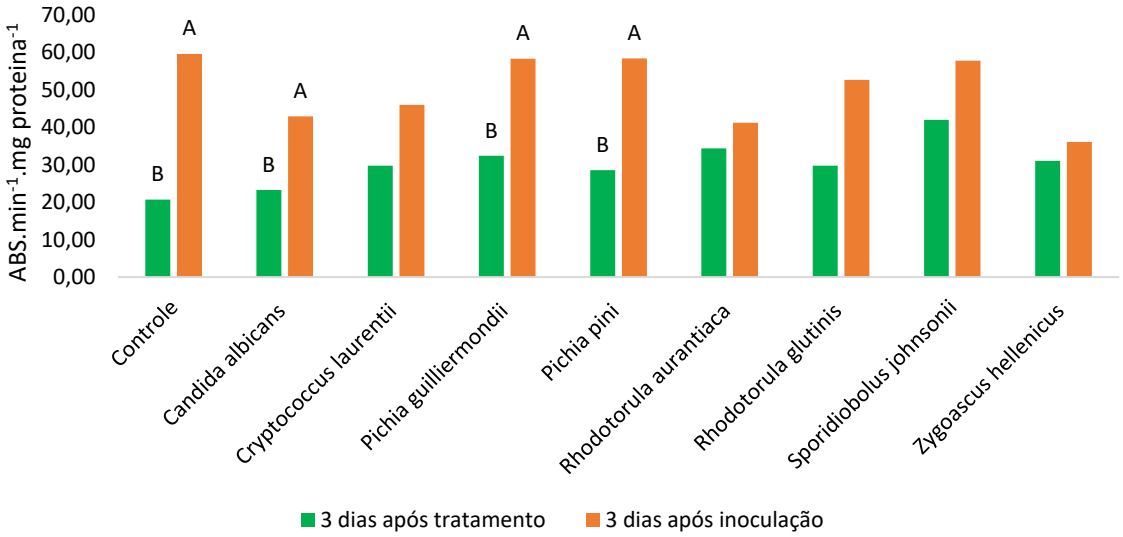

Figura 2. Atividade de peroxidase (POX) em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*.
Letras maiúsculas diferem entre si o tempo de coleta para cada tratamento, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 20,50%. Dados transformados utilizando a equação: $\sqrt{(x+0,5)}$.

A atividade de polifenoloxidase (PPO) apresentou efeito significativo em função dos tratamentos para 3 dias após o tratamento (Figura 3). Neste caso, a levedura *R. glutinis* diferiu positivamente do tratamento controle, com incremento de três vezes (200%) na atividade desta enzima. Também houve efeito significativo em função dos tempos de coleta para o controle, e as leveduras *C. albicans*, *P. pini* e *S. johnsonii* (Figura 3). Nestes casos, houve aumento na

atividade da enzima com a presença do patógeno, estando relacionado ao processo infeccioso e não aos tratamentos. Para as demais leveduras não houve efeito significativo entre os tempos de coleta, o que permite dizer que estas leveduras também interferiram na expressão da atividade desta enzima após a chegada do patógeno, impedindo seu aumento. Nestes casos, novamente o hospedeiro pode ter direcionado seus recursos metabólicos para outro mecanismo de defesa, durante o processo infeccioso.

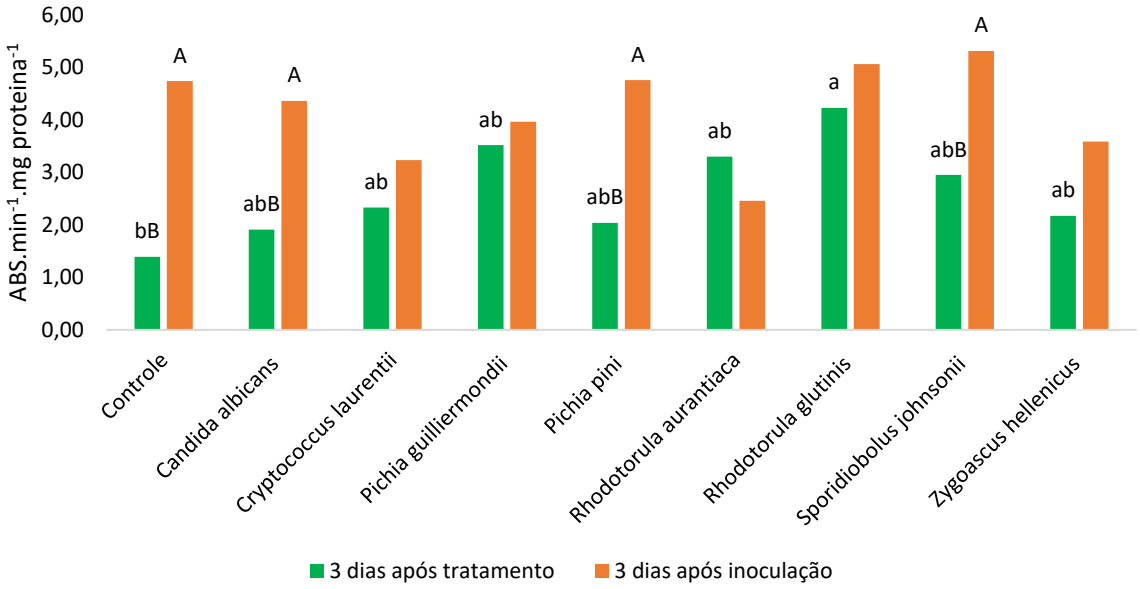

Figura 3. Atividade de polifenoloxidase (PPO) em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*.
Letras minúsculas diferem entre si entre os tratamentos em cada tempo de coleta, e letras maiúsculas diferem entre si o tempo de coleta para cada tratamento, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 19,01%. Dados transformados utilizando a equação: $\sqrt{(x+0,5)}$.

A atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) não apresentou efeito em função dos tratamentos e tempos de coleta com os diferentes isolados de leveduras (Figura 4).

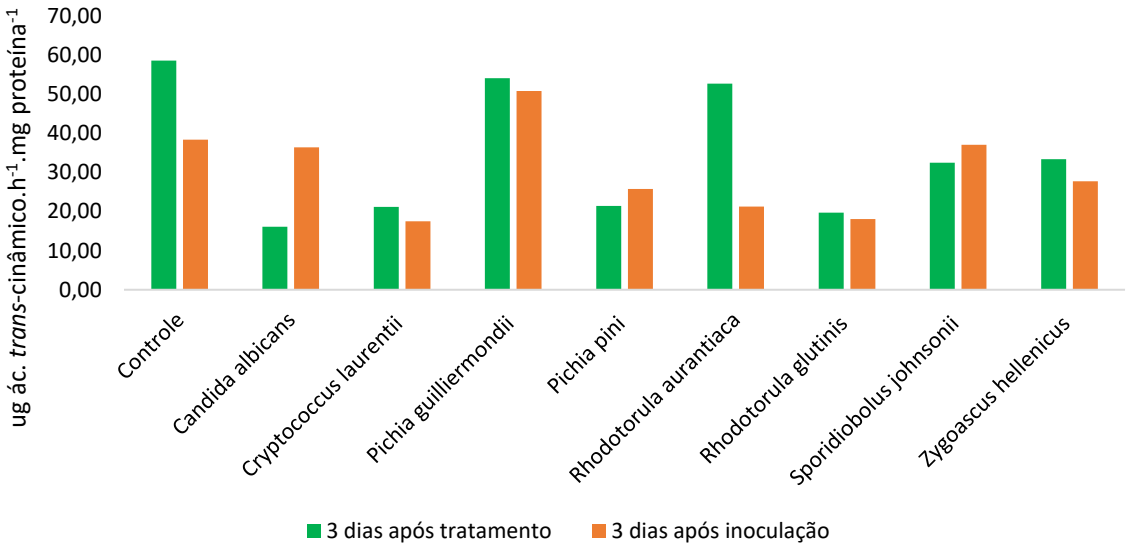

Figura 4. Atividade de fenilalanina amônia-liase (PAL) em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*.
Coeficiente de variação (CV) = 50,56%. Dados transformados utilizando a equação: √(x+0,5).

A atividade da enzima β-1,3-glucanase (GLU) apresentou efeito em função dos tempos de coleta para o tratamento com a levedura *P. pini* (Figura 5). Neste caso, houve incremento de 98% na atividade da enzima com a presença do patógeno.

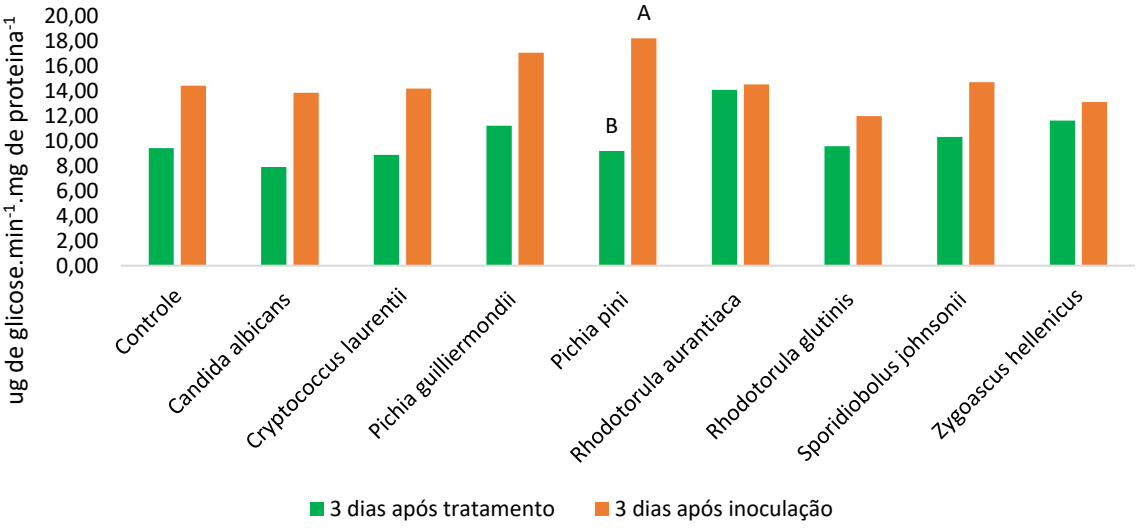

Figura 5. Atividade de β-1,3-glucanase (GLU) em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*.
Letras maiúsculas diferem entre si o tempo de coleta para cada tratamento, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 35,61%.

O teor de fenóis totais não apresentou efeito em função dos tratamentos e tempos de coleta com os diferentes isolados de leveduras (Figura 6).

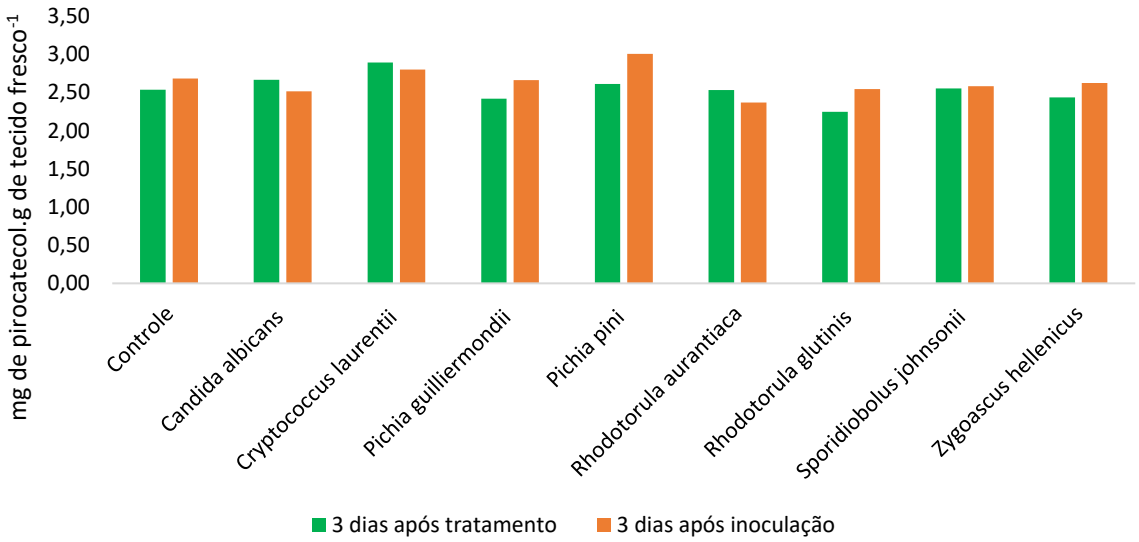

Figura 6. Teor de fenóis totais em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*.
Coeficiente de variação (CV) = 14,24%.

O teor de lignina não apresentou efeito em função dos tratamentos e tempos de coleta com os diferentes isolados de leveduras (Figura 7).

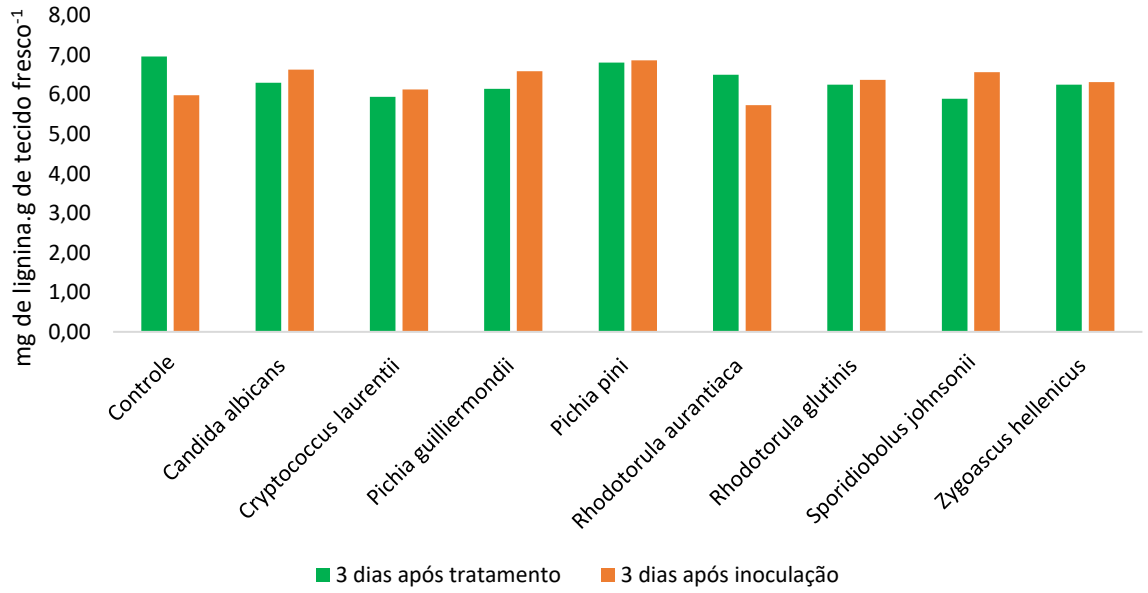

Figura 7. Teor de lignina em amostras de soja (*Glycine max*) quando tratadas com leveduras e inoculadas com *Colletotrichum truncatum*.
Coeficiente de variação (CV) = 10,85%. Dados transformados utilizando a equação: $\sqrt{(x+0,5)}$.

A aplicação de leveduras como agentes de biocontrole contra diferentes patógenos se tornou uma estratégia interessante para o manejo de doenças. Uma grande variedade de leveduras tem sido estudadas extensivamente para o controle biológico de doenças. Diferentes

isolados de leveduras foram eficientes na redução da severidade da antracnose em soja (KOHLER, 2022), no entanto, ao selecionar alguns destes isolados e novamente testá-los contra a severidade da doença, não houve êxito em encontrar o mesmo resultado. As leveduras não se mostraram eficientes na redução da doença neste ensaio em que o substrato não foi esterilizado. O solo não-estéril é rico em vida microbiana e nutrientes minerais essenciais para as plantas, fato este que pode ter proporcionado a planta condições adequadas para desenvolver a resistência a doença e por isso não apresentou diferença mesmo com a aplicação dos tratamentos. Dessa forma, podemos dizer que a esterilização do solo, anula a vida microbiana, bem como altera a composição nutricional do solo. Estes fatores levam a planta a desenvolver sintomas de desordens nutricionais, ficando debilitada e com menor resistência a doença. Quando ocorreu a aplicação de algumas leveduras estes tratamentos podem ter agravado a severidade da doença, justificando os resultados encontrados.

Vários estudos mostraram que as leveduras antagonistas podem interagir com o tecido hospedeiro para induzir a síntese de enzimas defensivas após a aplicação da levedura nas superfícies das plantas e frutos de diferentes culturas (YAN et al., 2018; ZHANG et al., 2019; KOHLER, 2022; QIU et al., 2022; GODANA et al., 2024). As enzimas defensivas são respostas do hospedeiro a uma condição estressante, como a presença de um patógeno e sua atividade. Essas enzimas são induzidas e podem ou não ser produzidas previamente a chegada do patógeno (ZEHRA et al., 2021). Quando ocorre a indução, a atividade enzimática de defesa do hospedeiro aumenta e o conteúdo de substâncias antimicrobianas se acumula. Com isso, a resposta de defesa do hospedeiro apresenta mais velocidade e magnitude, o que reduz ou anula a ocorrência da doença. A peroxidase (POX), a polifenoloxidase (PPO), a fenilalanina amônia-liase (PAL) e a β-1,3-glucanases (GLU) são exemplos de enzimas importantes nestes mecanismos de resistência a doenças contra os patógenos.

As proteínas solúveis representam estas várias enzimas defensivas além de outras proteínas dissolvidas no citosol. Neste sentido, quando há aumento das proteínas solúveis podemos dizer que várias enzimas estão sendo sintetizadas, inclusive aquelas ligadas aos mecanismos de defesa vegetal. No estudo, houve incremento no teor de proteínas solúveis com a presença do patógeno para o tratamento com a levedura *R. aurantiaca* (Figura 1). Este resultado indica que com a chegada do patógeno houve um acréscimo significativo na síntese de enzimas e proteínas possivelmente envolvidas no processo de defesa da planta, porém este aumento não está relacionado a nenhuma das enzimas estudadas neste estudo.

No presente estudo, houve a indução de POX e PPO por algumas leveduras somente com a chegada do patógeno, enquanto outras não apresentaram indução destas enzimas com a

presença do patógeno. No primeiro caso, em que houve indução, podemos dizer que a atividade aumentada destas enzimas se deu pelo processo infeccioso, pois só ocorre aumento após a presença do patógeno, igual ao tratamento controle. No segundo caso, em que estas enzimas não foram induzidas, as leveduras não permitiram a ativação da sinalização e a produção das mesmas, nem mesmo quando o patógeno chega, logo não ocorre aumento destas enzimas, pois a interação hospedeiro-levedura pode ter destinado previamente seus recursos metabólicos para ativação de outros mecanismos de defesa (Figuras 2 e 3). A única exceção ocorre com a levedura *R. glutinis* para a enzima PPO, em que se observa aumento na atividade da enzima com o tratamento, porém com a chegada do patógeno não houve mais incrementos, caracterizando uma indução direta pela levedura. Dessa forma, verifica-se uma tendência desta levedura para a indução da resistência das plantas de soja através da modulação na atividade da enzima PPO. A resistência induzida é um estado da planta com capacidade defensiva aprimorada estabelecida com estimulação suficiente uma vez que foi ativada (ZEHRA et al., 2021). No trabalho de Lorenzetti et al. (2020) leveduras também foram capazes de induzir a atividade de peroxidase e polifenoloxidase em cotilédones da soja.

A enzima POX é uma oxidorredutase, uma enzima importante na via fenilpropanoide, responsável por catalisar a última etapa da síntese de lignina, que é a oxidação de vários álcoois fenilpropílicos em intermediários de radicais livres correspondentes e seguida pela polimerização em polímero de lignina (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008). Alguns dos papéis desempenhados por essa enzima no processo de defesa são reforçar as paredes celulares impedindo a colonização do patógeno, e aumentar a formação de espécies reativas de oxigênio que apresentam ação antimicrobiana e atuam na sinalização. Já a PPO é uma importante enzima relacionada à defesa, é considerada como catalisadora da oxidação do fenol em quinonas (BOECKX et al., 2015). Estes compostos se acumulam no decorrer do processo de defesa tornando o ambiente tóxico ao desenvolvimento do patógeno, impedindo sua colonização (PRASANNATH, 2017).

A PAL é uma enzima chave e uma enzima limitadora da taxa da via metabólica fenilpropanoide, que pode converter L-fenilalanina em ácido *trans*-cinâmico. Esta via está envolvida na síntese de lignina, estilbenos, cumarina, fenóis e isoflavonoides (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008; VANHOLME et al., 2010). No presente estudo, a indução de PAL não foi significativa após a aplicação das leveduras e inoculação com o patógeno nas plantas de soja.

Os compostos fenólicos produzidos a partir da via metabólica fenilpropanoide, podem se acumular rapidamente nos estágios iniciais de infecção dos fitopatógenos para interromper

o crescimento do patógeno (LO; NICHOLSON, 2008). A lignina também desempenha um papel importante no estágio inicial da infecção por fitopatógenos na planta. Ela pode melhorar a resistência das paredes celulares das plantas, estas quando lignificadas formam uma barreira física aos patógenos, impedindo a degradação dos substratos pelas enzimas extracelulares do patógeno, e limitando a disseminação de toxinas patogênicas para a periferia (LAGAERT; BELIEN; VOLCKAERT, 2009). Os resultados deste estudo mostraram que a deposição de fenóis totais e lignina não são mecanismos de ação destas leveduras, visto que não houve efeito significativo para estes mecanismos. Embora que plantas tratadas com estas mesmas leveduras tenha apresentado menor severidade da doença em comparação com as plantas tratadas com o controle (KOHLER, 2022). O estudo de Godana et al. (2024) demonstrou que o tratamento com a levedura *Yarrowia lipolytica* resultou em maiores teores de compostos antifúngicos, incluindo fenóis totais, flavonoides e lignina, em aspargos. Isso mostra que algumas espécies de leveduras podem induzir o aumento nos teores destes compostos em plantas, mas não as leveduras utilizadas no presente estudo em sua interação com a cultura da soja.

As enzimas β-1,3-glucanases (GLU) e quitinases das plantas inibem o crescimento de alguns fungos, pois quebram a β-1,3-glucana e quitina da parede celular fúngica comprometendo a sua integridade, e geram fragmentos que atuam como elicitores que ativam outras respostas de defesa na planta. Em alguns casos, a superexpressão das β-1,3-glucanases e/ou quitinases em plantas fornece maior proteção contra patógenos fúngicos (HAM et al., 2002). No presente estudo, não houve alteração significativa na atividade da β-1,3-glucanase para as leveduras, com exceção somente da levedura *P. pini* (Figura 5). O tratamento com esta levedura ativou a sinalização, mas não apresentou aumento na atividade desta enzima. Porém, quando com a presença do patógeno, observa-se o incremento significativo da enzima, isto caracteriza o efeito *priming*. De acordo com Mauch-Mani et al. (2017), no estado *priming*, a planta fica em estado de alerta, permitindo a ativação de suas defesas mais rapidamente ou com maior efetividade quando submetida ao estresse. Sendo assim, com a informação previamente sinalizada, a resposta de defesa da planta em relação ao patógeno foi expressa em maior velocidade e magnitude. No entanto, podemos supor que a GLU não é uma enzima envolvida no processo de indução de resistência pela maioria das leveduras testadas.

Ainda que não tenha sido possível observar redução na severidade da doença nas plantas de soja, as atividades aumentadas de algumas das enzimas estudadas (PPO e GLU) por algumas espécies de leveduras indicam a ativação de respostas de defesa em plantas de soja por meio da indução de resistência, levando a uma resistência melhorada contra o patógeno *C. truncatum*.

Ao considerarmos os resultados observados neste estudo e com base na literatura, é possível sustentar a hipótese de que na natureza a indução de resistência mediada por leveduras pode ser algo complexo que envolva diversas espécies. Cada espécie de levedura pode ativar pequenos componentes no processo de resistência da planta. Assim, a diversidade de leveduras no filoplano pode ser importante na defesa vegetal contra patógenos. Portanto, combinar a aplicação de isolados de leveduras antagônicas em uma mistura de biocontrole, é um tema que merece ser explorado, o qual, como uma nova hipótese, pode atingir uma eficácia de biocontrole melhorada, aliando diferentes mecanismos de ação das leveduras.

CONCLUSÕES

As leveduras não interferiram na severidade da antracnose em plantas de soja, nas condições do experimento.

As leveduras *Rhodotorula glutinis* (AH 19-1) e *Pichia pini* (AH 15-3) são capazes de induzir o metabolismo defensivo em plantas de soja, atuando em diferentes mecanismos de ação.

REFERÊNCIAS

BARABASZ, R.F.; SILVA, R.H.; SUSTAKOWSKI, M.C.; KUHN, O.J.; CARVALHO, J.C.; ZIMMERMANN, J.; REIS, W.; STANGARLIN, J.R.; ZIMMEMANN, P.S. Evaluation of Yeast Potential in the Biological Control of *Colletotrichum orbiculare* in Cucumber. **Journal of Agricultural Science**, v. 12, n. 10, p. 295-300, 2020.

BARBER, M.S.; RIDE, J.P. A quantitative assay for induced lignification in wounded wheat leaves and its use to survey potential elicitors of the response. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 32, n. 2, p. 185-197, 1988.

BARRERA, S.E.; SARANGO-FLORES, S.; MONTENEGRO-GÓMEZ, S. The phyllosphere microbiome and its potential application in horticultural crops. A review. **Revista Colombiana De Ciências Hortícolas**, v. 13, n. 3, p. 384–396, 2019.

BOECKX, T.; WINTERS, A.L.; WEBB, J.; KINGSTON-SMITH, A.H. Polyphenol oxidase in leaves: is there any significance to the chloroplastic localization?. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 12, p. 3571-3579, 2015.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

DALLA PRIA, M.; SILVA, O.C.; COSTA, J.L.S.; SOUZA, E.D.T.; BERNI, R.F. Diagnose das doenças. In: CATERI, M.G.; DALLA PRIA, M.; SILVA, O.C.S. **Principais doenças fúngicas do feijoeiro: orientações para manejo econômico e ecológico**. Ponta Grossa: UEPG, 1999. p. 17-34.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R.K.O. A comparative study of polyphenol oxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, v. 64, n. 3, p. 351-359, 1999.

DUKARE, A.S.; PAUL, S.; NAMBI, V.E.; GUPTA, R.K.; SINGH, R.; SHARMA, K.; VISHWAKARMA, R.K. Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 9, p. 1498-1513, 2019.

FERRAZ, P.; BRANDÃO, R.L.; CÁSSIO, F.; LUCAS, C. *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of cacao witches' broom disease is killed *in vitro* by *Saccharomyces cerevisiae* and *Wickerhamomyces anomalus* yeasts. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, a. 706675, 2021.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FONTANA, D.C.; PAULA, S.; TORRES, A.G.; SOUZA, V.H.M.; PASCHOLATI, S.F.; SCHMIDT, D.; DOURADO NETO, D. Endophytic Fungi: Biological Control and Induced Resistance to Phytopathogens and Abiotic Stresses. **Pathogens**, v. 10, n. 5, a. 570, 2021.

FREIMOSER, F.M.; RUEDA-MEJIA, M.P.; TILOCCA, B.; MIGHELI, Q. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v. 35, a. 154, 2019.

GHORBANPOUR, M.; OMIDVARI, M.; ABBASZADEH-DAHAJI, P.; OMIDVAR, R.; KARIMAN, K. Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. **Biological Control**, v. 117, p. 147-157, 2018.

GODANA, E.A.; ZHANG, X.; YANG, Q.; HU, W.; ZHAO, L.; WANG, K.; ZHANG, H. *Yarrowia lipolytica* increased the activities of disease defense related enzymes and anti-fungal compounds in asparagus (*Asparagus officinalis*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 198, a. 105748, 2024.

GOGOI, A.R.; KHIANGTE, L.; THAPA, S.; BARAL, D.; SUBBA, B. Antagonistic yeast: eco-friendly tool for management plant diseases. **International Journal of Advanced Biochemistry Research**, v. 8, n. 7, p. 906-914, 2024.

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**. Viçosa: Editora UFV, 2016. cap. 3, p. 93-105.

HAM, K.; WU, S.; DARVILL, A.G.; ALBERSHEIM, P. Fungal pathogens secrete an inhibitor protein that distinguishes isoforms of plant pathogenesis-related endo-β-1,3-glucanases. **The Plant Journal**, v. 11, n. 2, p. 169-179, 2002.

HAMMERSCHMIDT, T.R.; NUCLES, E.M.; KUC, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v. 20, n. 1, p. 73-82, 1982.

HASSAN, H.; MOHAMED, M.T.M.; YUSOFF, S.F.; HATA, E.M.; TAJIDIN, N.E. Selecting antagonistic yeast for postharvest biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in papaya fruit and possible mechanisms involved. **Agronomy**, v. 11, n. 4, a. 760, 2021.

HELING, A. L. **Isolamento, identificação e avaliação do potencial de leveduras como agentes de proteção de plantas de feijoeiro ao crestamento bacteriano comum**. 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2016.

HERNANDEZ-MONTIEL, L.G.; DROBY, S.; PRECIADO-RANGEL, P.; RIVAS-GARCIA, T.; GONZALEZ-ESTRADA, R.R.; GUITIERREZ-MARTINEZ, P.; ÁVILA-QUEZADA, G.D. A sustainable alternative for postharvest disease management and phytopathogens biocontrol in fruit: antagonistic yeasts. **Plants**, v. 10, n. 12, a. 2641, 2021.

HERRERA-BALANDRANO, D.D.; WANG, S.; WANG, C.; SHI, X.; LIU, F.; LABORDA, P. Antagonistic mechanisms of yeasts *Meyerozyma guilliermondii* and *M. caribbica* for the control of plant pathogens: A review. **Biological Control**, v. 186, a. 105333, 2023.

HUANG, S.; ZHA, X.; FU, G. Affecting Factors of Plant Phyllosphere Microbial Community and Their Responses to Climatic Warming—A Review. **Plants**, v. 12, n. 16, a. 2891, 2023.

IBRAHIM, Y.A.; HASSAN, A.A. Evaluation of the *Rhodotorula glutinis* in controlling the gray rot disease caused by the pathogenic fungus *Botrytis cinerea* pre and post strawberry harvesting. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 1214, a. 012038, 2023.

INTO, P.; KHUNNAMWONG, P.; JINDAMORAGOT, S.; AM-IN, S.; INTANOO, W.; LIMTONG, S. Yeast associated with rice phylloplane and their contribution to control of rice sheath blight disease. **Microorganisms**, v. 8, n. 3, a. 362, 2020.

KHUNNAMWONG, P.; LERTWATTANASAKUL, N.; JINDAMORAKOT, S.; SUWANNARACH, N.; MATSUI, K.; LIMTONG, S. Evaluation of antagonistic activity and mechanisms of endophytic yeasts against pathogenic fungi causing economic crop diseases. **Folia Microbiologica**, v. 65, n. 3, p. 573–590, 2020.

KOHLER, T. R. **Leveduras: controle biológico de antracnose em soja e sensibilidade à fungicidas.** 2022. 61f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2022.

KUPPER, K.C.; MOURA, V.S.; PAULA, F.B.F. Leveduras como agentes de controle biológico de patógenos em pós-colheita em citros. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 29, p. 35-55, 2023.

LAGAERT, S.; BELIEN, T.; VOLCKAERT, G. Plant cell walls: Protecting the barrier from degradation by microbial enzymes. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 20, n. 9, p. 1064-1073, 2009.

LEVER, M. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. **Analytical Biochemistry**, v. 47, n. 1, p. 273-279, 1972.

LIMTONG, S.; INTO, P.; ATTARAT, P. Biocontrol of rice seedling rot disease caused by *Curvularia lunata* and *Helminthosporium oryzae* by epiphytic yeasts from plant leaves. **Microorganisms**, v. 8, n. 5, a. 647, 2020.

LO, S.C.; NICHOLSON, R.L. Compostos fenólicos e a importância nas doenças em plantas. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. **Interação planta-patógeno: Fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: Fealq, 2008. p. 285-303.

LORENZETTI, E.; CARVALHO, J.C.; ALVES NETO, A.J.; HENDGES, C.; KOHLER, T.R.; MATA, T.C.; SILVA, J.C.A.; BRITO, O.D.C.; FARIA, V.O.; FEROLDI, L.T.; HOEPERS, L.M.L.; KUHN, O.J. Induction of phytoalexins gliceoline and proteins related to defense in soybean cotyledon treated with yeast. **Journal of Agricultural Science**, v. 12, n. 12, p. 156-162, 2020.

MAUCH-MANI, B.; BACCELLI, I.; LUNA, E.; FLORS, V. Defense priming: an adaptive part of induced resistance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 68, p. 485-512, 2017.

MEDEIROS, F.H.V.; SILVA, J.C.P.; PASCHOLTI, S.F. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: volume 1 - princípios e conceitos**, 5ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. p. 261-274.

MELLO, S.C.M.; ECKSTEIN, B.; MARQUER, E.; CARVALHO, D.D.C. Controle de doenças de plantas. In: FONTES, E.M.G.; VALADORES-INGLIS, M.C. **Controle biológico de pragas na agricultura**. Brasília: Embrapa, 2020. p. 291-325.

PRASANNATH, K. Plant defense-related enzymes against pathogens: a review. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 11, n. 1, p. 38-48, 2017.

QIU, J.; ZHAO, L.; JIANG, S.; GODANA, E.A.; ZHANG, X.; ZHANG, H. Efficacy of *Meyerozyma caribbica* in the biocontrol of blue mold in kiwifruit and mechanisms involved. **Biological Control**, v. 173, a. 105000, 2022.

RODRIGUES, F.A.; JURICK, W.M.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; ROLLINS, J.A. Silicon influences cytological and molecular events in compatible and incompatible rice-*Magnaporthe grisea* interactions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 66, n. 4, p. 144-159, 2005.

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. **Interação planta-patógeno: Fisiologia, bioquímica e biologia molecular.** Piracicaba: Fealq, 2008. p. 227-248.

SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, v. 67, p. 1051-1056, 1977.

TARIQ, M.; KHAN, A.; ASIF, M.; KHAN, F.; ANSARI, T.; SHARIQ, M.; SIDDIQUI, M.A. Biological control: a sustainable and practical approach for plant disease management. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 70, n. 6, p. 507-524, 2020.

UMESHA S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, v. 34, p. 68-71, 2006.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Leveduras para o biocontrole de fitopatógenos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle biológico.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p. 41-56.

VANHOLME, R.; DEMEDTS, B.; MORREEL, K.; RALPH, J.; BOERJAN, W. Lignin Biosynthesis and Structure. **Plant Physiology**, v. 153, n. 3, p. 895-905, 2010.

YAN, Y.; ZHANG, X.; ZHENG, X.; APALIYA, M.T.; YANG, Q.; ZHAO, L.; GU, X.; ZHANG, H. Control of postharvest blue mold decay in pears by *Meyerozyma guilliermondii* and it's effects on the protein expression profile of pears. **Postharvest Biology and Technology**, v. 136, p. 124-131, 2018.

ZEHRA, A.; RAYTEKAR, N.A.; MEENA, M.; SWAPNIL, P. Efficiency of microbial bio-agents as elicitors in plant defense mechanism under biotic stress: A review. **Current Research in Microbial Sciences**, v. 2, a. 100054, 2021.

ZHANG, Q.; ZHAO, L.; LI, Z.; LI, C.; LI, B.; GU, X.; ZHANG, X.; ZHANG, H. Screening and identification of an antagonistic yeast controlling postharvest blue mold decay of pears and the possible mechanisms involved. **Biological Control**, v. 133, p. 26-33, 2019.

ZHANG, X.; LI, B.; ZHANG, Z.; CHEN, Y.; TIAN, S. Antagonistic yeasts: A promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. **Journal of Fungi**, v. 6, a. 158, 2020.

ZHAO, L.; LAN, C.; TANG, X.; LI, B.; ZHANG, X.; GU, X.; ZHANG, H. Efficacy of *Debaryomyce hansenii* in the biocontrol for postharvest soft rot of strawberry and investigation of the physiological mechanisms involved. **Biological Control**, v. 172, a. 105011, 2022.

4. ARTIGO III

PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE SOJA ATRAVÉS DA PULVERIZAÇÃO FOLIAR DE LEVEDURAS

GROWTH PROMOTING OF SOYBEAN PLANTS THROUGH FOLIAR SPRAYING WITH YEAST

RESUMO

Leveduras são fungos unicelulares com capacidade de colonizar a superfície de órgãos vegetais, bem como produzir substâncias como fitohormônios, mostrando-se uma alternativa promissora para a promoção de crescimento vegetal. Sendo assim, objetivou-se verificar o efeito de isolados de leveduras na promoção do crescimento em plantas de soja. Para os ensaios, utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, contendo nove tratamentos, sendo oito isolados de leveduras e um controle, divididos em três repetições. Cada parcela foi preparada contendo cinco subparcelas, sendo quatro delas destrutivas e a quinta permanecendo até o momento de colheita. Avaliou-se altura de plantas, diâmetro de caule, número de trifólios, número de ramos, flores e vagens, massa fresca e seca de parte aérea e raízes, volume de raízes, número de nódulos, e produção. As leveduras mostraram-se uma escolha promissora para a promoção de crescimento de plantas de soja. O isolado *Sporidiobolus johnsonii* incrementou em 31% o número de trifólios totais, 164% o número de flores, 45% o número de ramos vegetativos/reprodutivos, 45% na massa seca de parte aérea, 114% no volume de raízes e 121% na massa fresca de raízes das plantas de soja em relação ao tratamento controle. Enquanto o isolado *Zygoascus hellenicus* incrementou em 42% o número de ramos vegetativos/reprodutivos, 90% no volume de raízes e 80% na massa fresca de raízes das plantas de soja em relação ao tratamento controle. Estas leveduras apresentaram resultados promissores, mostrando-se uma alternativa para se aprofundar os estudos na promoção de crescimento vegetal em outras espécies de plantas.

Palavras-chave: cepas; crescimento vegetal; *Glycine max* L.; microrganismos benéficos; simbiose.

ABSTRACT

Yeasts are unicellular fungi capable of colonizing the surface of plant organs and producing substances such as phytohormones, showing promise as an alternative for promoting plant

growth. Therefore, this study aimed to verify the effect of yeast isolates on promoting growth in soybean plants. A completely randomized experimental design was used, containing nine treatments: eight yeast isolates and one control, divided into three replications. Each plot was prepared with five subplots, four of which were destructive and the fifth remaining until harvest. Plant height, stem diameter, number of trifoliate leaves, number of branches, flowers and pods, fresh and dry weight of shoots and roots, root volume, number of nodules, and yield were evaluated. Yeasts proved to be a promising choice for promoting the growth of soybean plants. The isolate *Sporidiobolus johnsonii* increased the total number of trifoliate leaves by 31%, the number of flowers by 164%, the number of vegetative/reproductive branches by 45%, the shoot dry mass by 45%, the root volume by 114%, and the root fresh mass by 121% in soybean plants compared to the control treatment. Meanwhile, the isolate *Zygoascus hellenicus* increased the number of vegetative/reproductive branches by 42%, the root volume by 90%, and the root fresh mass by 80% in soybean plants compared to the control treatment. These yeasts showed promising results, proving to be an alternative for further studies on plant growth promotion in other plant species.
Key words: strains; plant growth; *Glycine max* L.; beneficial microorganisms; symbiosis.

INTRODUÇÃO

Os microrganismos promotores de crescimento de plantas têm sido associados a vários tipos de plantas e são comumente encontrados em muitos ambientes (MARZAINI; MOHD-ARIS, 2021). Esses microrganismos são classificados como bactérias ou fungos não patogênicos que vivem em tecidos vivos saudáveis de plantas, mas não causam nenhum dano às plantas (BACON; WHITE, 2000). Alguns microrganismos vivem nas superfícies dos órgãos das plantas, ou seja, epífitas, enquanto outros são capazes de colonizar os tecidos internos das plantas, ou seja, endófitos.

Esses microrganismos estimulam o crescimento e o desenvolvimento das plantas por meio de vários mecanismos diretos e indiretos. Além disso, reduzem o custo de produção e a poluição ambiental, quando eficientes. As plantas hospedeiras, por sua vez, fornecem nutrientes de reserva, células de contorno, mucilagem, lignina e celulose como fontes de alimento para os microrganismos por meio de seus órgãos (folhas e raízes) (VIVES-PERIS et al., 2020).

As leveduras são fungos unicelulares que podem assimilar diferentes fontes de carbono e nitrogênio (DEVI et al., 2025). Seu principal modo de reprodução é assexuado, por brotamento ou fissão celular (HERNANDEZ-FERNANDEZ et al., 2021). As leveduras

possuem distribuição variada no ambiente, e desempenham papel importante na dinâmica da renovação biológica e química no solo, plantas, animais e água. Possuem importância econômica diversa, como na fermentação de bebidas e alimentos, além de inúmeras aplicações biotecnológicas (PHALE, 2018).

As leveduras ocupam diferentes espaços nos ecossistemas, do solo à atmosfera, participando de importantes relações ecológicas. Em muitos ambientes, esses fungos estabelecem mutualismo com plantas (GIEHL et al., 2023). Progressos consideráveis têm sido feitos em pesquisas que demonstram que o crescimento de plantas pode ser promovido por leveduras (HERNANDEZ-FERNANDEZ et al., 2021). Nos últimos anos, elas ganharam importância na agricultura como agentes promotores do crescimento vegetal e são apropriadamente chamadas de leveduras promotoras do crescimento vegetal (PGPY). As PGPY são capazes de colonizar partes da planta e beneficiar seus hospedeiros por diferentes mecanismos de atuação. Elas podem atuar na solubilização de fosfatos e na fixação de nitrogênio que melhora a fertilidade do solo, na produção de sideróforos que aumenta a resistência ao estresse abiótico e na inibição de patógenos vegetais garantindo maior resistência a doenças (MOLLER, LERM, BOTHA, 2016; NIMSI et al., 2023; DEVI et al., 2025). Alguns dos seus efeitos positivos podem ser devidos ao fornecimento de nutrientes solúveis e à produção de diferentes fitohormônios e enzimas que contribuem diretamente para o crescimento das plantas, atuando como bioestimulantes (HERNANDEZ-FERNANDEZ et al., 2021; DEVI et al., 2025).

Leveduras promotoras de crescimento vegetal eficientes já foram relatadas em diferentes espécies vegetais, como soja (HARIDY; EL-BAKI; FAWZY, 2022), milho (ABDELAAL et al., 2017; SARABIA et al., 2018; RAMOS-GARZA et al., 2023), feijão (BILEK; REZKI; BEKKI, 2022), feijão-preto (BRIGHT et al., 2022), alface (CABRINI; SALA; MAGRI, 2019), tomate-cereja (CHEN et al., 2022) e chá preto (KUMLA et al., 2020). Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho, avaliar o efeito de diferentes isolados de leveduras na promoção de características do crescimento vegetal na cultura da soja.

MATERIAL E MÉTODOS

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

O ensaio foi conduzido em condições de casa de vegetação climatizada, com programação de temperatura de 25 ºC e turno de rega a cada hora por 40 segundos com aspersão, considerando o método de parcelas destrutivas. Utilizou-se delineamento experimental

inteiramente casualizado, contendo nove tratamentos e três repetições, totalizando 27 parcelas. Cada parcela foi preparada contendo cinco subparcelas, sendo quatro delas destrutivas e a quinta permanecendo até o momento de colheita. Cada subparcela consistiu por um vaso contendo duas plantas de soja. Os tratamentos utilizados foram um controle (somente meio de cultura) e oito isolados de leveduras da coleção de leveduras do Laboratório de Fitopatologia, das seguintes espécies: *Candida albicans* (AH 05-3), *Cryptococcus laurentii* (AH 17-2), *Pichia guilliermondii* (AH 16-2), *Pichia pini* (AH 15-3), *Rhodotorula aurantiaca* (AH 12-3), *Rhodotorula glutinis* (AH 19-1), *Sporidiobolus johnsonii* (AH 19-2) e *Zygoascus hellenicus* (AH 05-5).

CULTIVO E PREPARO DE SUSPENSÕES LEVEDURIFORMES

Conforme ensaios de Heling (2016), que isolou diferentes leveduras encontradas em filoplanos em folhas e flores de diversas espécies de plantas, e consequente, os ensaios já realizados por Kohler (2022), selecionou-se oito espécies com potencial para controle de antracnose em plantas de soja. Esses isolados de leveduras foram 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 ágar diluídos em 1000 mL de água destilada), cobertos com óleo mineral estéril e mantidos à 4 ºC em geladeira (GONÇALVES; ALFENAS; MAFIA, 2016). Os isolados foram retirados do preservado e cultivados em placas de Petri contendo meio ágar-YEPG (20 g glicose, 10 g peptona, 5 g extrato de levedura e 20 g ágar diluídos em 1000 mL de água destilada) e mantidos em câmara de incubação BOD (25 ºC com 12 horas de fotoperíodo) para crescimento e multiplicação. Para obtenção da cultura dos isolados, as leveduras foram repicadas do meio sólido em placas de Petri e cultivadas em meio YEPG líquido em frascos Erlenmeyer. As leveduras permaneceram sob agitação a 150 rpm por sete dias a aproximadamente 25 °C.

A partir de Erlenmeyers com as leveduras cultivadas com sete dias de crescimento, realizou-se o preparo das suspensões de culturas leveduriformes, diluindo-se 20 mL de cada cultivo em garrafas pet contendo 2 L de água destilada (proporção de 1%). Adicionou-se 3 gotas de polissorbato 20, para quebrar a tensão superficial da água e facilitar a adesão das células de leveduras. Cada garrafa identificada foi levemente agitada para completa homogeneização das suspensões. Posteriormente, as suspensões de cada uma das leveduras foram aferidas com auxílio de Câmara de Neubauer, correspondendo a no mínimo 2×10^7 UFC mL^{-1}.

ENSAIO DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL

Sementes de soja da cultivar BMX 58i60 RSF IPRO foram semeadas em vasos de polipropileno com capacidade para 5,5 L, contendo como substrato a mistura de solo, areia e matéria orgânica, na proporção 3:1:1. Foram semeadas quatro sementes de soja por vaso, e após a germinação foram mantidas apenas duas plantas por vaso. Após o desbaste foi adicionado palhada de capim Tifton seco sobre a superfície do solo nos vasos.

A primeira coleta para avaliações de crescimento ocorreu aos 14 dias após a semeadura, quando apresentavam os dois primeiros trifólios expandidos (estádio fenológico V3). Logo na sequência, as demais subparcelas receberam a pulverização foliar dos tratamentos neste mesmo estádio de crescimento. Foi realizada a aplicação dos tratamentos controle e das culturas das leveduras (células + meio de cultura diluídos em água destilada), previamente aferidas à no mínimo 2 x 10^7 UFC mL^{-1}. As aplicações foram realizadas utilizando-se um pulverizador costal com pressão constante mantida a 206 kPa por CO_2 comprimido. A barra foi equipada com seis bicos AD/D 110025 (jato leque antideriva duplo Magnojet), distanciados de 0,5 m entre si. O volume de calda pulverizado foram todos ajustados para 200 L ha^{-1}. As subparcelas contendo as plantas de soja foram mantidas nas condições de casa de vegetação.

A segunda coleta para avaliações de crescimento ocorreu 14 dias após a aplicação dos tratamentos, aos 28 dias após a semeadura (estádio fenológico V5 – quinto nó), seguindo a escala proposta por Fehr e Caviness (1977). A aplicação dos tratamentos ocorreu novamente nas subparcelas que restaram seguindo o mesmo protocolo. As demais coletas e aplicações seguiram os mesmos procedimentos até a quarta coleta, sempre ocorrendo a cada 14 dias da última aplicação. A terceira coleta ocorreu no estadio fenológico R2 – florescimento pleno. Enquanto, a quarta coleta ocorreu no estádio fenológico R4 - vagens completamente desenvolvidas. A última subparcela permaneceu na casa de vegetação até o momento de colheita, para avaliações de produção.

AVALIAÇÕES DE CRESCIMENTO DO MATERIAL VEGETAL

Em cada coleta de material vegetal realizou-se a remoção da parte aérea através do corte basal da haste das plantas, com auxílio de uma tesoura de poda. Em seguida, os vasos foram submetidos ao procedimento de lavagem do substrato para coleta do sistema radicular destas plantas. Na parte aérea foram avaliados o diâmetro de caule, altura das plantas, número de trifólios e ramos, número de flores e vagens, massa fresca e seca da parte aérea. Na porção radicular foram avaliados o volume de raízes, o número de nódulos, a massa fresca e seca da porção radicular.

A avaliação do diâmetro do colo da planta foi realizada com auxílio de um paquímetro digital procedendo-se a leitura do diâmetro no local do corte de cada uma das plantas. Para a avaliação da altura das plantas realizou-se a mensuração da base de cada planta onde ocorreu o corte até o ápice da folha mais alta de cada planta, com auxílio de uma régua milimetrada. Para as avaliações do número de trifólios e ramos, bem como o número de flores e vagens procedeu-se a contagem individual de cada estrutura de cada uma das plantas. As avaliações foram condizentes com o estadio vegetativo das plantas, portanto nem todas as avaliações ocorreram em todas as coletas. Após as avaliações na casa de vegetação, o material da parte aérea foi armazenado em sacos de papel identificados, acondicionados em caixas de poliestireno expandido e posteriormente, encaminhados para o Laboratório de Fitopatologia.

Para a coleta do sistema radicular realizou-se a lavagem em água corrente do substrato presente em cada um dos vasos, cuidando-se para coletar toda a porção de raízes. As raízes foram armazenadas em sacos de papel identificados e acondicionadas em caixas de poliestireno expandido para encaminhar ao Laboratório de Fitopatologia.

No laboratório procedeu-se a mensuração da massa fresca da parte aérea, bem como da porção radicular, com auxílio de uma balança analítica. Em seguida, realizou-se a avaliação do volume de raízes por meio da imersão das raízes em proveta contendo volume de água previamente definido. A determinação do volume radicular foi baseada na diferença entre o volume final e o volume inicial, após a imersão das raízes. Para o número de nódulos procedeu-se a contagem individual de cada um dos nódulos maiores do que 2 mm presentes no sistema radicular das duas plantas.

Por fim, os materiais vegetais armazenados nos sacos de papel identificados foram acondicionados em estufa de secagem com circulação forçada de ar a aproximadamente 65 ºC por 5 dias. Após a secagem dos materiais, estes foram novamente pesados em balança analítica para determinação da massa seca da parte aérea e da porção radicular.

No momento da colheita foram avaliados o número de vagens por planta, o peso de 100 grãos e o peso total dos grãos. Sendo o número de vagens obtido através da contagem manual de todas as vagens de cada planta. Após isso, as vagens foram debulhadas, contabilizando-se 100 grãos para a mensuração do peso de 100 grãos, com auxílio de uma balança analítica, e posteriormente mensurou-se o peso total dos grãos de cada planta.

Os resultados das avaliações de crescimento vegetal para diâmetro de caule, altura de plantas, número de trifólios e ramos, volume de raízes, número de nódulos e massa fresca e seca de parte aérea e de porção radicular foram tabulados e submetidos a elaboração da curva de progresso de crescimento vegetal. A partir da curva de progresso calculou-se a área abaixo

da curva de progresso de crescimento vegetal para cada variável analisada, com apoio da equação adaptada de Shaner e Finney (1977). As variáveis número de flores, número de vagens, peso de 100 grãos e peso total de grãos foram tabulados e submetidos somente ao cálculo da média, pois foram somente analisadas em um período de coleta de material vegetal.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) pelo teste F e quando significativos, submetidos a comparação de médias pelo teste Tukey, com níveis de 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação de crescimento vegetal para variáveis da parte aérea não houve efeito significativo para o diâmetro e nem para altura das plantas de soja, para os diferentes tratamentos com isolados de leveduras. Também não houve efeito significativo para a massa fresca da parte aérea e para o número de nódulos radiculares das plantas de soja, para os diferentes tratamentos com isolados de leveduras.

Houve efeito significativo para o número de trifólios da haste central e o número de trifólios totais das plantas de soja, para os diferentes tratamentos com isolados de leveduras (Figuras 1 e 2). Para o número de trifólios da haste central, observa-se que o isolado *S. johnsonii* não diferiu do tratamento controle. No entanto, este mesmo isolado foi superior aos tratamentos com os isolados *C. albicans*, *C. laurentii* e *P. pini*, para esta mesma variável analisada. Em relação ao número de trifólios totais, observa-se novamente que o isolado *S. johnsonii* foi superior ao tratamento com o isolado *C. laurentii*. Além disso, este isolado *S. johnsonii* se mostrou superior ao tratamento controle para esta última variável.

Houve efeito significativo para o número de ramos vegetativos/reprodutivos das plantas de soja, para os diferentes tratamentos com isolados de leveduras (Figura 3). Observa-se que os isolados *S. johnsonii* e *Z. hellenicus* se mostraram superiores ao tratamento controle e aos isolados *C. albicans*, *C. laurentii*, *P. guilliermondii* e *P. pini*. Além disso, os isolados *R. aurantiaca* e *R. glutinis* também se mostraram superiores ao tratamento controle.

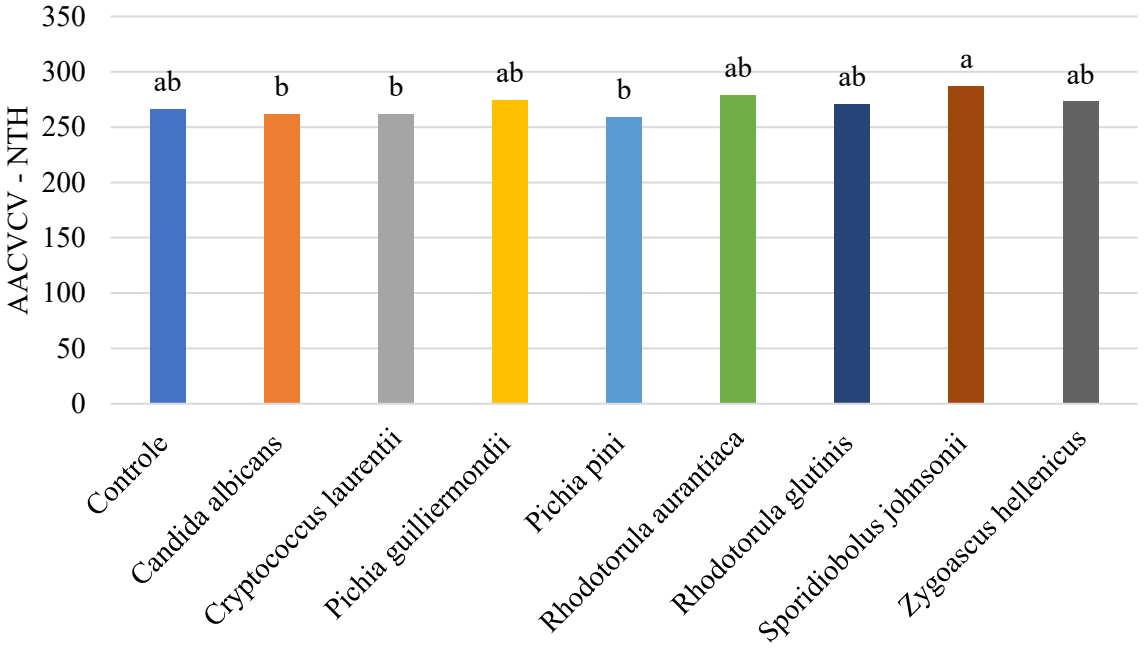

Figura 1. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para o número de trifólios da haste central das plantas de soja (AACCV – NTH), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras.
Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 2,89%.

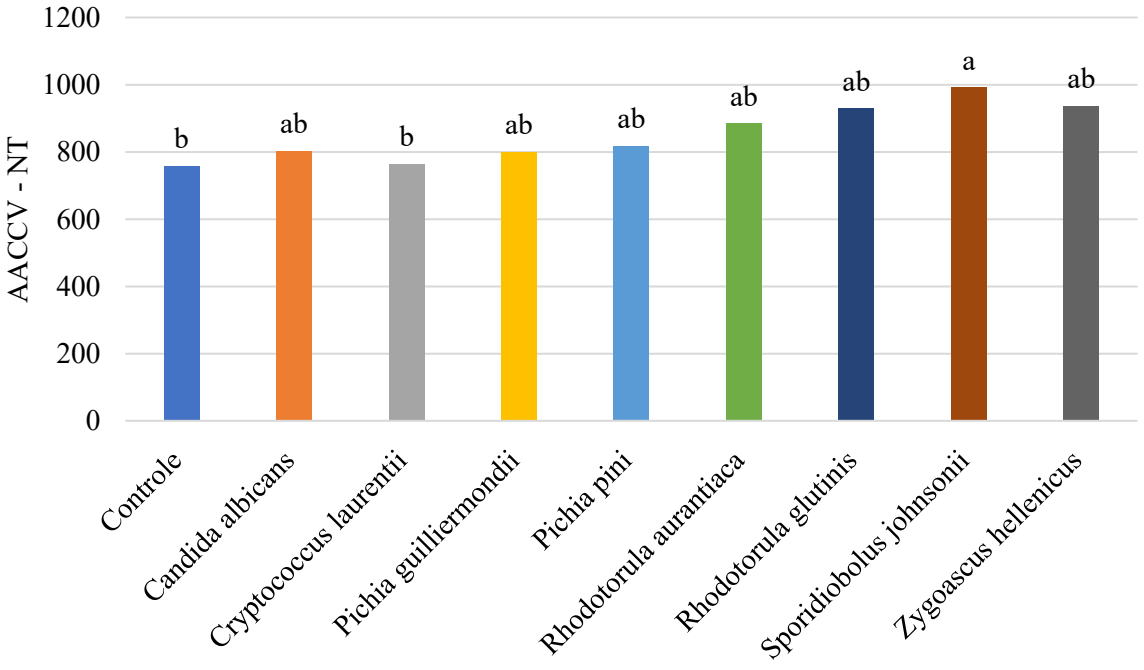

Figura 2. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para o número de trifólios total das plantas de soja (AACCV – NT), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras.
Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 8,78%.

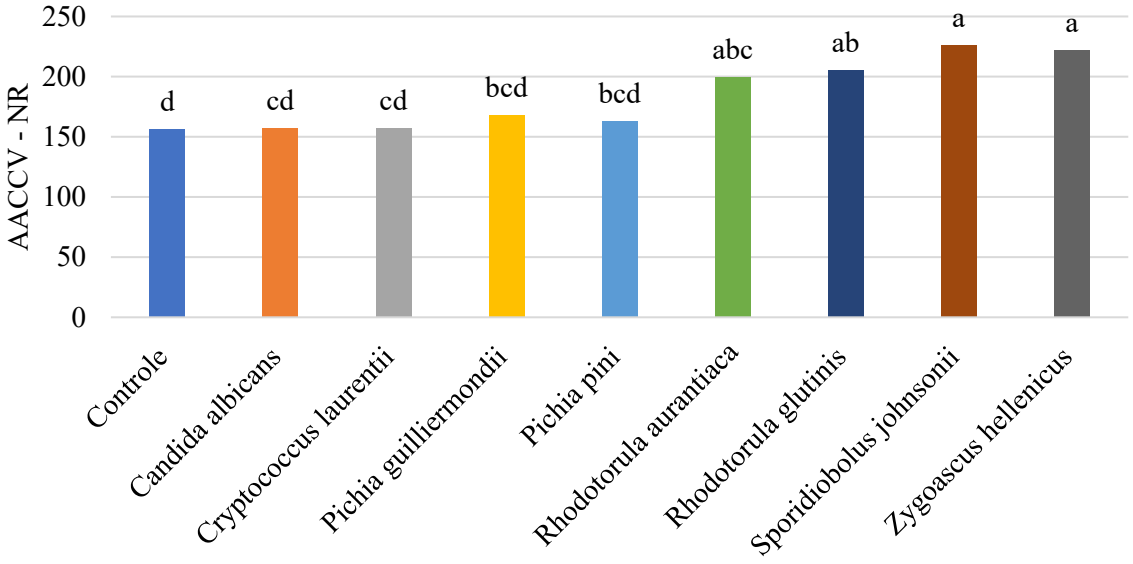

Figura 3. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para o número de ramos vegetativos/reprodutivos das plantas de soja (AACCV – NR), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras.
Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 8,11%.

Para a variável massa seca da parte aérea houve efeito significativo para os diferentes tratamentos com os isolados de leveduras (Figura 4). Observa-se que o isolado *S. johnsonii* se mostrou superior ao tratamento controle e aos isolados *C. laurentii* e *P. guilliermondii*. Além disso, o isolado *R. glutinis* também se mostrou superior ao tratamento controle.

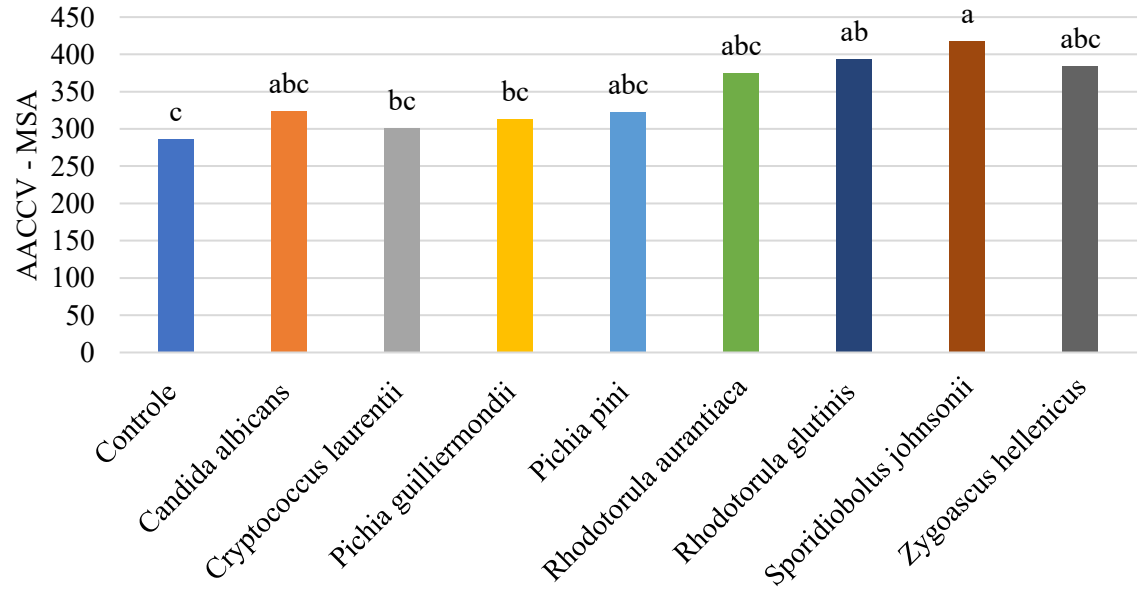

Figura 4. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para a massa seca da parte aérea das plantas de soja (AACCV – MSA), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras.
Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 10,13%.

Houve efeito significativo para o número médio de flores das plantas de soja, aos 42 dias após a semeadura, para os diferentes tratamentos com isolados de leveduras (Figura 5). Observa-se que o isolado *S. johnsonii* se mostrou superior ao tratamento controle, com aumento de 164%.

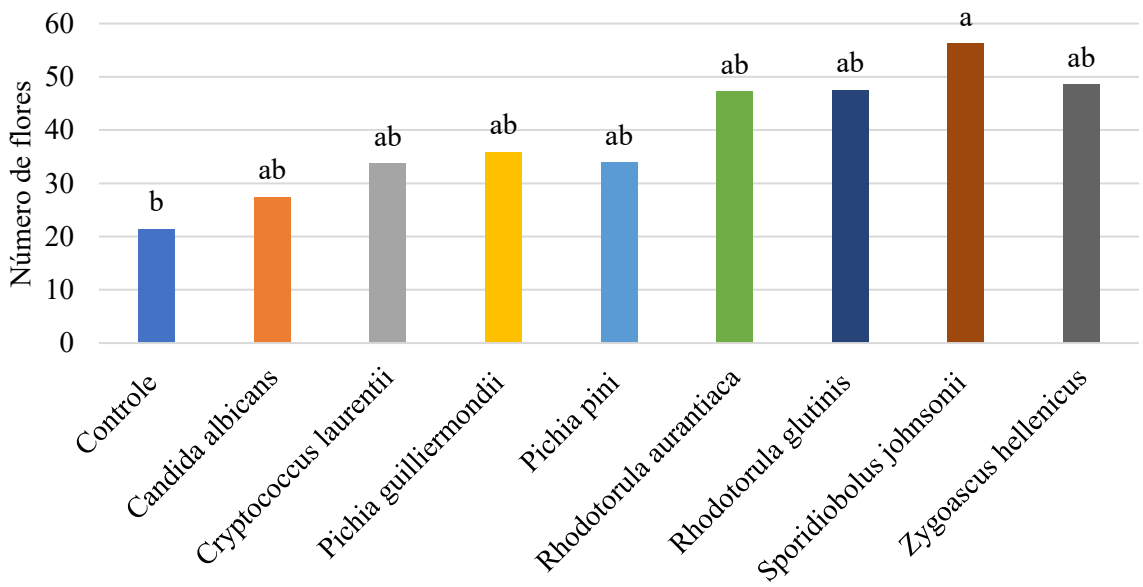

Figura 5. Número de flores por planta de soja, aos 42 dias após a semeadura, em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras.
Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 27,54%.

Na avaliação de crescimento vegetal para variáveis da parte radicular houve efeito significativo para o volume de raízes das plantas de soja, para os diferentes tratamentos com isolados de leveduras (Figura 6). Observa-se que o isolado *S. johnsonii* se mostrou superior ao tratamento controle e aos demais isolados de leveduras, com exceção da levedura *Z. hellenicus*. Este último, também diferiu do tratamento controle e dos isolados *C. albicans*, *C. laurentii*, *P. guilliermondii e P. pini* para esta mesma variável.

Houve efeito significativo para a massa fresca das raízes das plantas de soja, para os diferentes tratamentos com isolados de leveduras (Figura 7). Observa-se que o isolado *S. johnsonii* se mostrou superior ao tratamento controle e aos demais isolados de leveduras, com exceção da levedura *Z. hellenicus*. Este último, também diferiu do tratamento controle e dos isolados *C. laurentii*, *P. guilliermondii* e *R. aurantiaca* para esta mesma variável. Houve também efeito significativo para a massa seca das raízes das plantas de soja, para os diferentes tratamentos com isolados de leveduras (Figura 8). Neste caso, o isolado *S. johnsonii* se mostrou superior ao isolado *P. guilliermondii*.

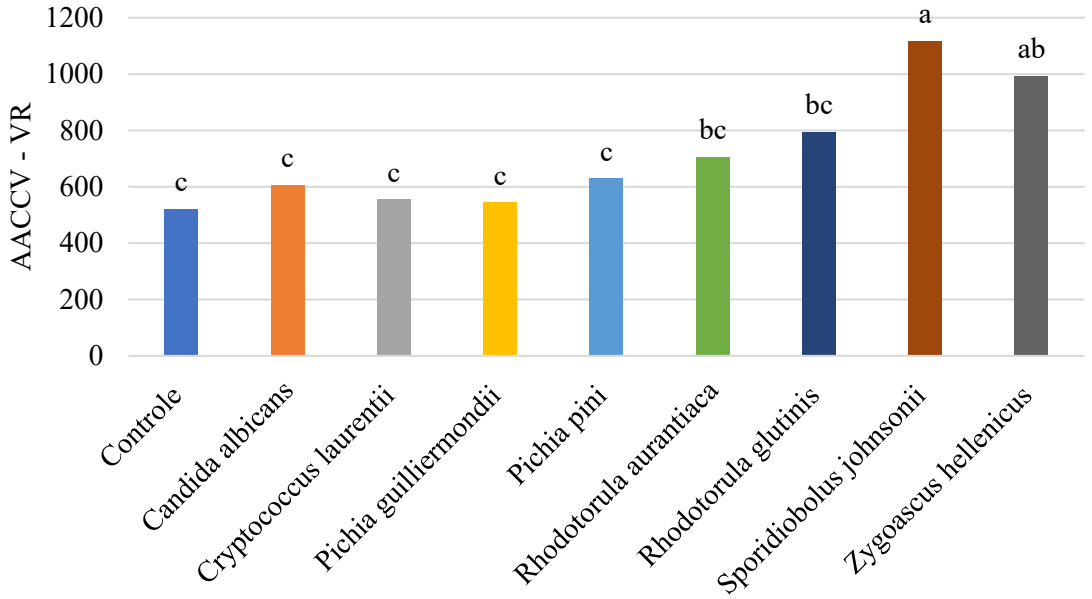

Figura 6. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para o volume de raízes das plantas de soja (AACCV – VR), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras.
Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 14,91%.

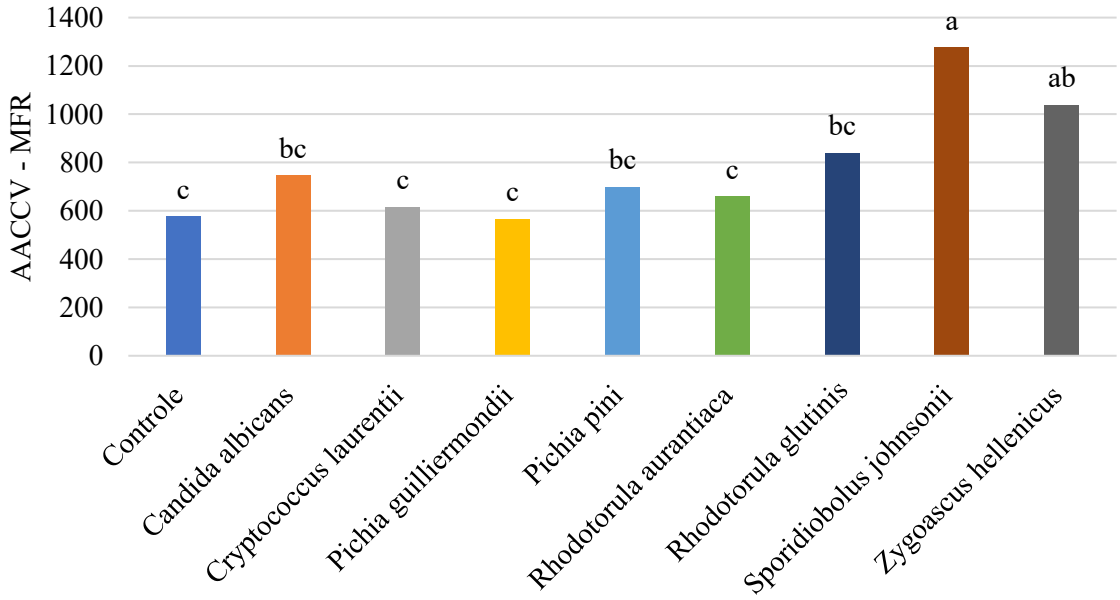

Figura 7. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para a massa fresca das raízes das plantas de soja (AACCV – MFR), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras.
Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 16,86%.

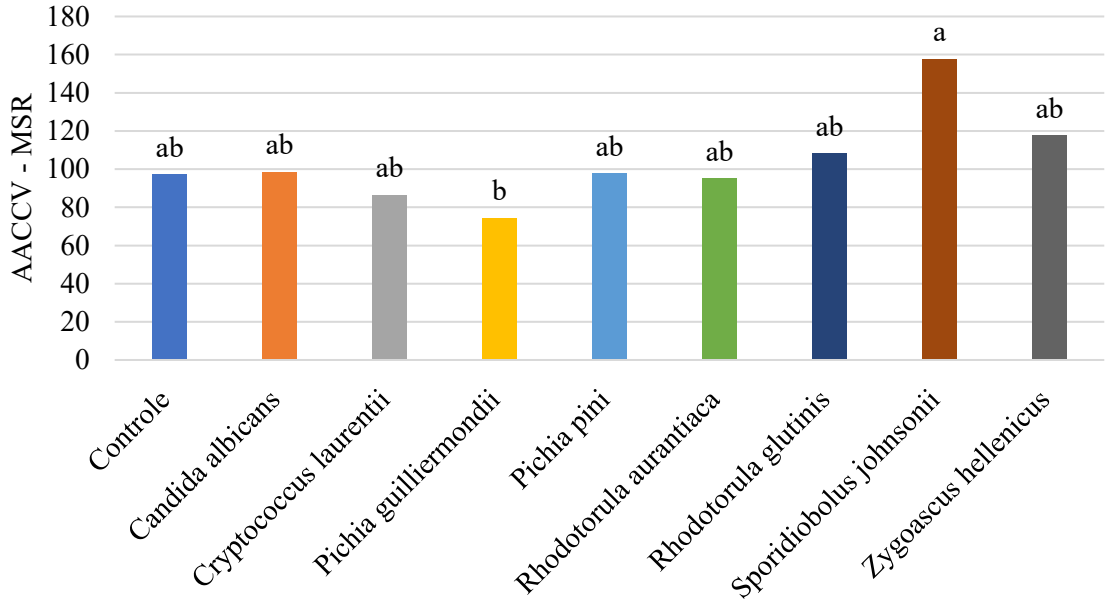

Figura 8. Área abaixo da curva de crescimento vegetal para a massa seca das raízes das plantas de soja (AACCV – MSR), em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras.
Letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 24,01%.

Não houve efeito significativo para as variáveis relacionadas a produção das plantas de soja (Tabela 1). O número de vagens por planta de soja não diferiu aos 56 DAS e nem no momento da colheita, bem como não houve diferença para o peso de 100 grãos e peso total dos grãos das plantas de soja.

Tabela 1. Número de vagens por planta aos 56 dias após a semeadura, número de vagens por planta no momento da colheita, peso de 100 grãos (g) e peso total de grãos (g) das plantas de soja, em função dos tratamentos com diferentes isolados de leveduras.

	Nº vagens - 56 DAS^{ns}	Nº vagens - Colheita^{ns}	Peso 100 grãos^{ns}	Peso total de grãos^{ns}
Controle	52	67	8	21
Candida albicans	86	77	10	29
Cryptococcus laurentii	58	83	9	29
Pichia guilliermondii	57	65	9	22
Pichia pini	72	71	10	24
Rhodotorula aurantiaca	65	88	11	35
Rhodotorula glutinis	70	72	10	25
Sporidiobolus johnsonii	76	76	10	30
Zygoascus hellenicus	74	65	10	25

^{ns} – não significativo de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação (CV) = 23,97% (Nº vagens – 56 DAS), 15,20% (Nº vagens – Colheita), 14,54% (Peso 100 grãos) e 25,16% (Peso total de grãos).

Algumas leveduras se mostraram eficientes em promover algumas características relacionadas ao crescimento vegetal, mostrando-se uma alternativa promissora para os cultivos. A levedura *S. johnsonii* apresentou aumento de 31% no número de trifólios totais, 45% no número de ramos vegetativos/reprodutivos, 164% no número de flores aos 42 dias após a semeadura, 45% na massa seca da parte aérea, 114% no volume de raízes e 121% para a massa fresca de raízes das plantas de soja em relação ao tratamento controle. Nos ensaios de Carvalho (2020), o isolado *S. johnsonii* também promoveu maior área foliar e massa seca de parte aérea em plantas de feijoeiro em relação ao tratamento controle.

O isolado *Z. hellenicus* também apresentou resultados promissores. Sendo superior ao controle em 42%, 90% e 80% para as variáveis número de ramos vegetativos/reprodutivos, volume de raízes e para massa fresca de raízes, respectivamente, de plantas de soja. O aumento significativo no volume e na massa de raízes sugere que este isolado pode ter estimulado o desenvolvimento radicular. Um sistema radicular mais desenvolvido está relacionado à maior eficiência na absorção de água e nutrientes, o que pode refletir em maior vigor vegetativo e potencial produtivo das plantas de soja. O que justifica o aumento também no número de ramos vegetativos/reprodutivos, porém não impactando na produção final.

O isolado *R. glutinis* apresentou aumento de 31% para o número de ramos vegetativos/reprodutivos e 37% na massa seca da parte aérea de plantas de soja em relação ao tratamento controle. Outro isolado do mesmo gênero *R. aurantiaca* também apresentou aumento de 28% para o número de ramos vegetativos/reprodutivos das plantas de soja em relação ao controle. O aumento na massa seca da parte aérea e no número de ramos pode estar associado à maior atividade meristemática e à redistribuição de fotoassimilados, processos regulados por fitormônios.

Na revisão de Hernandez-Fernandez et al. (2021), várias leveduras que induzem fitormônios promotores de crescimento vegetal são citadas. A grande maioria das espécies citadas produzem ácido indol-3-acético (AIA), o principal promotor de crescimento vegetal da classe das auxinas. Sun et al., (2014) concluiu que todas as 12 leveduras isoladas no ensaio produziram ácido indol-3-acético (AIA). Carvalho (2020) por sua vez, observou que a levedura *S. johnsonii* sintetizou valor considerável do fitohormônio ácido indol-3-acético. Enquanto Madaloz et al. (2025) observou o mesmo efeito para a espécie *Rhodotorula* sp..

Além da síntese de fitohormônio AIA, outros mecanismos podem estar envolvidos na promoção do crescimento vegetal pelas leveduras, incluindo a produção de giberelinas, citocininas e compostos voláteis, bem como o fornecimento de nutrientes através da solubilização (HERNANDEZ-FERNANDEZ et al., 2021; KOWALSKA; KRZYMINSKA;

TYBURSKI, 2022; DEVI et al., 2025). Esses mecanismos de ação já foram observados em diferentes espécies de leveduras (NIMSI et al., 2023) e podem atuar de forma sinérgica, resultando em respostas fisiológicas mais intensas nas plantas. Sugere-se que algum destes mecanismos, não testados no presente estudo, podem justificar os resultados encontrados para os isolados de leveduras *S. johnsonii*, *Z. hellenicus* e *Rhodotorula* spp. que promoveram aumento em algumas das variáveis analisadas neste estudo.

Ressalta-se ainda que a variabilidade de indução observada entre os isolados sugere que a promoção de crescimento vegetal é dependente de cada isolado de levedura e possivelmente do perfil metabólico produzido por cada levedura. Diante dessa variabilidade, se faz importante a seleção de isolados com maior potencial bioestimulante para utilização em cultivos agrícolas.

A promoção de crescimento vegetal por leveduras também foi observada por Haridy; El-Baki e Fawzy (2022), em que todos os parâmetros de crescimento da soja foram significativamente melhorados devido à aplicação de leveduras. No estudo de Abdelaal et al. (2017) as aplicações com leveduras aumentaram significativamente o número de folhas, a área foliar e as concentrações de clorofila em plantas de milho, enquanto no estudo de Ramos-Garza et al. (2023) a inoculação com leveduras melhorou a altura, a massa fresca e o comprimento da raiz também em plantas de milho crioulo. Esses resultados corroboram com o encontrado neste estudo e reforçam o potencial desse grupo microbiano como alternativa e/ou complemento às estratégias tradicionais de promoção de crescimento em diferentes cultivos agrícolas. De modo geral, indicam o potencial de isolados de leveduras como bioestimulantes microbianos. O uso desses microrganismos pode contribuir para sistemas de produção mais sustentáveis, reduzindo a dependência de insumos químicos e promovendo maior eficiência no uso de nutrientes.

CONCLUSÕES

As leveduras *Sporidiobolus johnsonii* (AH 19-2), *Zygoascus hellenicus* (AH 05-5), *Rhodotorula glutinis* (AH 19-1) e *Rhodotorula aurantiaca* (AH 12-3) são capazes de promover o crescimento de plantas de soja, induzindo incrementos promissores em diferentes variáveis agronômicas.

REFERÊNCIAS

ABDELAAL, K. A. A.; HAFEZ, Y. M.; SABAGH, A. E.; SANEOKA, H. Ameliorative effects of abscisic acid and yeast on morpho-physiological and yield characteristics of maize plant (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 26, n. 12, p. 7372-7383, 2017.

BACON, C. W.; WHITE, J. F. **Microbial endophytes.** CRC Press. 2000. 502 p.

BILEK, F. N.; REZKI, M. A.; BEKKI, A. The impact of indigenous soil yeasts inoculation on bean (*Phaseolus vulgaris*) growth. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 3, a. 170, 2022.

BRIGHT, J. P.; KARUNANADHAM, K.; MAHESHWARI, H. S.; KARUPPIAH, E. A. A.; THANKAPPAN, S.; NATARAJ, R.; PANDIAN, D.; AMEEN, F.; POCZAI, P.; SAYYED, R. Z. Seed-borne probiotic yeasts foster plant growth and elicit health protection in black gram (*Vigna mungo* L.). **Sustainability**, v. 14, n. 8, a. 4618, 2022.

CABRINI, P. G.; SALA, F. C.; MAGRI, M. M. R. *Torulaspora globosa*: rhizosphere yeast promoting lettuce growth on seedlings and under field conditions. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 266-271, 2019.

CARVALHO, J. C. **Potencial das leveduras *Rhodotorula glutinis* e *Sporidiobolus johnsonii* no controle biológico de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, na promoção do crescimento do feijoeiro e na ativação de rotas metabólicas ligadas à indução de resistência**. 2020. 101f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2020.

CHEN, R.; JIANG, W.; FU, S.; CHOU, J. Screening, evaluation, and selection of yeasts with high ammonia production ability under nitrogen free condition from the cherry tomato (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) rhizosphere as a potential bio-fertilizer. **Rhizosphere**, v. 23, a. 100580, 2022.

DEVI, R. P.; YAMUNASRI, P.; BALANCHANDAR, D.; MURUGANANTHI, D. Potentials of soil yeasts for plant growth and soil health in agriculture: A review. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 19, n. 1, a. 9907, 2025.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development.** Ames Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special Report, 80).

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GIEHL, A.; SANTOS, A. A.; CADAMURO, R. D.; TADIOTO, V.; GUTERRES, I. Z.; ZUCHI, I. D. P.; MINUSSI, G. A.; FONGARO, G.; SILVA, I. T.; ALVES JÚNIOR, S. L. Biochemical and biotechnological insights into fungus-plant interactions for enhanced sustainable agricultural and industrial processes. **Plants**, v. 12, n. 14, a. 2688, 2023.

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**. Viçosa: Editora UFV, 2016. cap. 3, p. 93-105.

HARIDY, M. S.; EL-BAKI, G. K. A.; FAWZY, E. N. Potentiality of some yeast species for promotion of growth and productivity of soybean plants (*Glycine max* L.). **Journal of Advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 64-78, 2022.

HELING, A. L. **Isolamento, identificação e avaliação do potencial de leveduras como agentes de proteção de plantas de feijoeiro ao crestamento bacteriano comum**. 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2016.

HERNANDEZ-FERNANDEZ, M.; CORDERO-BUESO, G.; RUIZ-MUNOZ, M.; CANTORAL, J. M. Culturable yeasts as biofertilizers and biopesticides for a sustainable agriculture: A comprehensive review. **Plants**, v. 10, n. 5, a. 822, 2021.

KOHLER, T. R. **Leveduras: controle biológico de antracnose em soja e sensibilidade à fungicidas.** 2022. 61f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2022.

KOWALSKA, J.; KRZYMINSKA, J.; TYBURSKI, J. Yeasts as a potential biological agent in plant disease protection and yield improvement—A short review. **Agriculture**, v. 12, n. 9, a. 1404, 2022.

KUMLA, J.; NUNDAENG, S.; SUWANNARACH, N.; LUMYONG, S. Evaluation of multifarious plant growth promoting trials of yeast isolated from the soil of Assam Tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) plantations in Northern Thailand. **Microorganisms**, v. 8, n. 8, a. 1168, 2020.

MADALOZ, A. P.; SETTE, C. K.; OLIVEIRA, C. G.; TREICHEL, H.; ALVES JÚNIOR, S. L.; SILVA, V. N. Effect of a flower-isolated yeast on seed germination and seedling growth of carrot and cauliflower. **Discover Plants**, v. 2, a. 279, 2025.

MARZAINI, B; MOHD-ARIS, A. Plant Growth-promoting Microorganisms Isolated from Plants as Potential Antimicrobial Producers: A Review. **Tropical Agricultural Science**, v. 44, n. 2, p. 255-273, 2021.

MOLLER, L., LERM, B.; BOTHA, A. Interactions of arboreal yeast endophytes: an unexplored discipline. **Fungal Ecology**, v. 22, p. 73-82, 2016.

NIMSI, K. A.; MANJUSHA, K.; KATHIRESAN, K.; ARYA, H. Plant growth-promoting yeasts (PGPY), the latest entrant for use in sustainable agriculture: a review. **Journal of Applied Microbiology**, v. 134, n. 2, a. Ixac088, 2023.

PHALE, S. Yeast: characteristics and economic significance. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, v. 8, n. 5, a. 336, 2018.

RAMOS-GARZA, J.; AGUIRRE-NOYOLA, J. L.; BUSTAMANTE-BRITO, R.; ZELAYA-MOLINA, L. X.; MALDONADO-HERNANDEZ, J.; MORALES-ESTRADA, A. I.; RESENDIZ-VENADO, Z.; PALACIOS-OLVERA, J.; ANGELES-GALLEGOS, T.; TERREROS-MOYSEN, P.; CORTES-CARVAJAL, M.; MARTINEZ-ROMERO, E. Mycobiota of mexican maize landraces with auxin-producing yeasts that improve plant growth and root development. **Plants**, v. 12, n. 6, a. 1328, 2023.

SARABIA, M.; CAZARES, S.; GONZALEZ-RODRIGUES, A.; MORA, F.; CARREON-ABUD, Y.; LARSEN, J. Plant growth promotion traits of rhizosphere yeasts and their response to soil characteristics and crop cycle in maize agroecosystems. **Rhizosphere**, v. 6, p. 67-73, 2018.

SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, v. 67, p. 1051-1056, 1977.

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.. **PLoS One**, v. 9, n. 12, a. 114196, 2014.

VIVES-PERIS, V.; OLLAS, C.; GÓMEZ-CADENAS, A.; PÉREZ-CLEMENTE, R. M. Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. **Plant cell reports**, v. 39, n. 1, p. 3-17, 2020.

5. CONCLUSÕES GERAIS

As leveduras não apresentaram resultados satisfatórios para o manejo e controle do fungo *Colletotrichum truncatum*, causador da antracnose em soja. Visto que, nenhuma das leveduras interferiu no crescimento micelial de *C. truncatum* nas condições de laboratório. Bem como, a grande maioria não promoveu inibição da germinação de conídios de *C. truncatum*, a exceção da levedura *Candida albicans* (AH 05-3) que apresentou em média 42,5% de inibição de germinação de conídios.

As leveduras também não reduziram a severidade da antracnose em plantas de soja, nas condições do ensaio. Porém, as leveduras *Rhodotorula glutinis* (AH 19-1) e *Pichia pini* (AH 15-3) mostraram-se capazes de induzir o metabolismo defensivo em plantas de soja, atuando em diferentes mecanismos de ação, porém não contra *C. truncatum* nas condições do ensaio. A levedura *R. glutinis* (AH 19-1) incrementou em 200% a atividade da enzima polifenoloxidase com o tratamento. A levedura *P. pini* (AH 15-3) induziu em 98% a atividade da enzima β-1,3-glucanase após a presença do patógeno.

Por outro lado, as leveduras se mostraram uma estratégia interessante para a promoção de crescimento de plantas de soja. Isto porque as leveduras *Sporidiobolus johnsonii* (AH 19-2), *Zygoascus hellenicus* (AH 05-5), *R. glutinis* (AH 19-1) e *Rhodotorula aurantiaca* (AH 12-3) induziram incrementos promissores em diferentes variáveis agronômicas. A levedura *S. johnsonii* (AH 19-2) incrementou em 31% o número de trifólios totais, 164% o número de flores, 45% o número de ramos vegetativos/reprodutivos, 45% na massa seca de parte aérea, 114% no volume de raízes e 121% na massa fresca de raízes das plantas de soja em relação ao tratamento controle. Enquanto a levedura *Z. hellenicus* (AH 05-5) incrementou em 42% o número de ramos vegetativos/reprodutivos, 90% no volume de raízes e 80% na massa fresca de raízes das plantas de soja em relação ao tratamento controle. Já, a levedura *R. glutinis* (AH 19-1) apresentou aumento de 31% para o número de ramos vegetativos/reprodutivos e 37% na massa seca da parte aérea. E a levedura *R. aurantiaca* (AH 12-3) também apresentou aumento de 28% para o número de ramos vegetativos/reprodutivos das plantas de soja em relação ao controle.

Dessa forma, conclui-se que as leveduras, de modo geral, não foram eficientes para o controle de *C. truncatum* em soja, nas condições *in vitro* e em casa de vegetação climatizada, no entanto, algumas foram capazes de promover mecanismos de resistência e atuar na promoção de crescimento vegetal em plantas de soja.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELAAL, K. A. A.; HAFEZ, Y. M.; SABAGH, A. E.; SANEOKA, H. Ameliorative effects of abscisic acid and yeast on morpho-physiological and yield characteristics of maize plant (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 26, n. 12, p. 7372-7383, 2017.

AMORIM, L.; PASCHOLATI, S. F. Ciclo das relações patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: volume 1 - princípios e conceitos**, 5ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. p. 45-70.

BILEK, F. N.; REZKI, M. A.; BEKKI, A. The impact of indigenous soil yeasts inoculation on bean (*Phaseolus vulgaris*) growth. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 3, a. 170, 2022.

BISHT, N.; SINGH, T.; ANSARI, M. M.; CHAUBAN, P. S. The hidden language of plant-beneficial microbes: chemo-signaling dynamics in plant microenvironments. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 41, a. 35, 2025.

BOUFLEUR, T. R.; CIAMPI-GUILLARDI, M.; TIKAMI, I.; ROGERIO, F.; THON, M. R.; SUKNO, S. A.; MASSOLA JUNIOR, N. S.; BARONCELLI, R. Soybean anthracnose caused by *Colletotrichum* species: current status and future prospects. **Molecular Plant Pathology**, v. 22, n. 4, p. 393-409, 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **AGROFIT - Sistemas de agrotóxicos fitossanitários.** Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 28 fev. 2026.

BRIGHT, J. P.; KARUNANADHAM, K.; MAHESHWARI, H. S.; KARUPPIAH, E. A. A.; THANKAPPAN, S.; NATARAJ, R.; PANDIAN, D.; AMEEN, F.; POCZAI, P.; SAYYED, R. Z. Seed-borne probiotic yeasts foster plant growth and elicit health protection in black gram (*Vigna mungo* L.). **Sustainability**, v. 14, n. 8, a. 4618, 2022.

CABRINI, P. G.; SALA, F. C.; MAGRI, M. M. R. *Torulaspora globosa*: rhizosphere yeast promoting lettuce growth on seedlings and under field conditions. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 266-271, 2019.

CHEN, R.; JIANG, W.; FU, S.; CHOU, J. Screening, evaluation, and selection of yeasts with high ammonia production ability under nitrogen free condition from the cherry tomato (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) rhizosphere as a potential bio-fertilizer. **Rhizosphere**, v. 23, a. 100580, 2022.

COOK, R.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. 2 ed. American Phytopathological Society: Sant Paul/Minnesota, 1983, 539p.

DEVI, R. P.; YAMUNASRI, P.; BALANCHANDAR, D.; MURUGANANTHI, D. Potentials of soil yeasts for plant growth and soil health in agriculture: A review. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 19, n. 1, a. 9907, 2025.

DIAS, D. R; SCHWAN, R. F. Isolamento e identificação de leveduras. In: MOREIRA, F. M. S.; HUISING, E. J.; BIGNELL, D. E. **Manual de biologia dos solos tropicais: Amostragem e caracterização da biodiversidade.** Lavras: UFLA, 2010. cap. 10, p. 227-277.

DUKARE, A. S.; PAUL, S.; NAMBI, V. E.; GUPTA, R. K.; SINGH, R.; SHARMA, K.; VISHWAKARMA, R. K. Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, p. 1498-1513, 2019.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development.** Ames Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special Report, 80).

FERRAZ, P.; BRANDÃO, R. L.; CÁSSIO, F.; LUCAS, C. *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of cacao witches' broom disease is killed *in vitro* by *Saccharomyces cerevisiae* and *Wickerhamomyces anomalus* yeasts. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, a. 706675, 2021.

FONTANA, D. C.; PAULA, S.; TORRES, A. G.; SOUZA, V. H. M.; PASCHOLATI, S. F.; SCHMIDT, D.; DOURADO NETO, D. Endophytic fungi: biological control and induced resistance to phytopathogens and abiotic stresses. **Pathogens**, v. 10, n. 5, a. 570, 2021.

FREIMOSER, F. M.; RUEDA-MEJIA, M. P.; TILOCCA, B.; MIGHELI, Q. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v. 35, a. 154, 2019.

GODOY, C. V.; ALMEIDA, A. M. R.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M. C.; DIAS, W. P.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; HENNING, A. A.; YORINORI, J. T.; FERREIRA, L. P.; SILVA, J. F. V. Doenças da Soja. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: volume 2 - doenças das plantas cultivadas**. 5ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. cap. 67, p. 657-675.

GOGOI, A. R.; KHIANGTE, L.; THAPA, S.; BARAL, D.; SUBBA, B. Antagonistic yeast: eco-friendly tool for management plant diseases. **International Journal of Advanced Biochemistry Research**, v. 8, n. 7, p. 906-914, 2024.

GRIGOLLI, J. F. J. Manejo de doenças na cultura da soja. In: PITOL, C.; GITTI, D. C.; GRIGOLLI, J. F. J.; LOURENÇÃO, A. L. F.; MELOTTO, A. M. **Tecnologia e produção: soja 2014/2015**. Curitiba: Midiograf, cap. 8, p. 134-156, 2015.

HARIDY, M. S.; EL-BAKI, G. K. A.; FAWZY, E. N. Potentiality of some yeast species for promotion of growth and productivity of soybean plants (*Glycine max* L.). **Journal of Advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, p. 64-78, 2022.

HASSAN, H.; MOHAMED, M. T. M.; YUSOFF, S. F.; HATA, E. M.; TAJIDIN, N. E. Selecting antagonistic yeast for postharvest biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in papaya fruit and possible mechanisms involved. **Agronomy**, v. 11, a. 760, 2021.

HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M.; GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; YORINORI, J. T.; COSTAMILAN, L. M.; FERREIRA, L. P.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M.; DIAS, W. P. **Manual de identificação de doenças de soja.** 5ed. Londrina: Embrapa Soja, 2014.

HERNANDEZ-FERNANDEZ, M.; CORDERO-BUESO, G.; RUIZ-MUNOZ, M.; CANTORAL, J. M. Culturable yeasts as biofertilizers and biopesticides for a sustainable agriculture: A comprehensive review. **Plants**, v. 10, n. 5, a. 822, 2021.

HERNANDEZ-MONTIEL, L. G.; DROBY, S.; PRECIADO-RANGEL, P.; RIVAS-GARCIA, T.; GONZALEZ-ESTRADA, R. R.; GUITIERREZ-MARTINEZ, P.; ÁVILA-QUEZADA, G. D. A sustainable alternative for postharvest disease management and phytopathogens biocontrol in fruit: antagonistic yeasts. **Plants**, v. 10, n. 12, a. 2641, 2021.

HERRERA-BALANDRANO, D. D.; WANG, S.; WANG, C.; SHI, X.; LIU, F.; LABORDA, P. Antagonistic mechanisms of yeasts *Meyerozyma guilliermondii* and *M. caribbica* for the control of plant pathogens: A review. **Biological Control**, v. 186, a. 105333, 2023.

IBRAHIM, Y. A.; HASSAN, A. A. Evaluation of the *Rhodotorula glutinis* in controlling the gray rot disease caused by the pathogenic fungus *Botrytis cinerea* pre and post strawberry harvesting. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 1214, a. 012038, 2023.

INTO, P.; KHUNNAMWONG, P.; JINDAMORAGOT, S.; AM-IN, S.; INTANOO, W.; LIMTONG, S. Yeast associated with rice phylloplane and their contribution to control of rice sheath blight disease. **Microorganisms**, v. 8, n. 3, a. 362, 2020.

KHUNNAMWONG, P.; LERTWATTANASAKUL, N.; JINDAMORAKOT, S.; SUWANNARACH, N.; MATSUI, K.; LIMTONG, S. Evaluation of antagonistic activity and mechanisms of endophytic yeasts against pathogenic fungi causing economic crop diseases. **Folia Microbiologica**, v. 65, p. 573–590, 2020.

KOHL, J.; KOLNAAR, R.; RAVENSBERG, W. J. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, a. 845, 2019.

KUMLA, J.; NUNDAENG, S.; SUWANNARACH, N.; LUMYONG, S. Evaluation of multifarious plant growth promoting trials of yeast isolated from the soil of Assam Tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) plantations in Northern Thailand. **Microorganisms**, v. 8, n. 8, a. 1168, 2020.

KUPPER, K. C.; MOURA, V. S.; PAULA, F. B. F. Leveduras como agentes de controle biológico de patógenos em pós-colheita em citros. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 29, p. 35-55, 2023.

LAHLALI, R.; EZRARI, S.; RADOUANE, N.; NENFAOUI, J.; ESMAEEL, Q.; HAMSS, H. E.; BELABESS, Z.; BARKA, E. A. Biological control of plant pathogens: A global perspective, **Microrganisms**, v. 10, n. 3, a. 596, 2022.

LIMTONG, S.; INTO, P.; ATTARAT, P. Biocontrol of rice seedling rot disease caused by *Curvularia lunata* and *Helminthosporium oryzae* by epiphytic yeasts from plant leaves. **Microorganisms**, v. 8, n. 5, a. 647, 2020.

MEDEIROS, F. H. V; SILVA, J. C.; PASCHOLATI, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: volume 1 - princípios e conceitos.** 5ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. cap. 17, p. 261-274.

MELLO, S. C. M.; ECKSTEIN, B.; MARQUES, E.; CARVALHO, D. D. C. Controle de doenças de plantas. In: FONTES, E. M. G.; VALADORES-INGLIS, M. C. **Controle biológico de pragas na agricultura.** Brasília: Embrapa, 2020. cap. 10, p. 291-325.

MOLLER, L., LERM, B.; BOTHA, A. Interactions of arboreal yeast endophytes: an unexplored discipline. **Fungal Ecology**, v. 22, p. 73-82, 2016.

MUKHERJEE, M.; MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; ZACHOW, C.; BERG, G.; ZEILINGER, S. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions: Advances in genetics of biological control. **Indian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 522-529, 2012.

MÜLLER, L. Fisiologia. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.L. **A soja no Brasil**. Campinas, 1981. p. 109 - 129.

NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; MERTZ-HENNING, L. M.; FOLONI, J. S. S.; MORAES, L. A. C.; GONÇALVES, S. L. Ecofisiologia da soja. In: SEIXAS, C. D. S.; NEUMAIER, N.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LEITE, R. M. V. B. C. **Tecnologias de produção de soja.** Londrina: Embrapa Soja, 2020. cap. 2, p. 33-54.

NGUYEN, H.; PHAM, T.; NGUYEN, P.; DINH, N.; LE, M.; NGUYEN, T.; NGUYEN, T.; NGUYEN, V. Microbial biocontrol in agriculture: from mechanistic understanding to field application. **Discover Plants**, v. 2, a. 334, 2025.

NIMSI, K. A.; MANJUSHA, K.; KATHIRESAN, K.; ARYA, H. Plant growth-promoting yeasts (PGPY), the latest entrant for use in sustainable agriculture: a review. **Journal of Applied Microbiology**, v. 134, n. 2, a. Ixac088, 2023.

NOGUEIRA, A. P. O.; SEDIYAMA, T.; BARROS, H. B.; TEIXEIRA, R. C. Morfologia, crescimento e desenvolvimento. In: SEDIYAMA, T. **Tecnologia de produção e usos da soja.** 1ed. Londrina: Mecenas, 2009. cap. 2, 314 p.

OLIVEIRA, A. V.; RABELO, P. R.; PORTES, C. S.; COELHO, A. R. Biocontrole *in vitro* de *Botrytis cinerea* por leveduras killer visando aplicação em morangos pós-colheita. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 13, n. 3, p. 353-364, 2011.

RAMOS, A. M.; GALLY, M.; GARCIA, M. C.; LEVIN, L. Pectinolytic enzyme production by *Colletotrichum truncatum*, causal agent of soybean anthracnose. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 27, n. 4, p. 186-190, 2010.

RAMOS, D. M. B.; SILVA, C. F.; BATISTA, L. R.; SCHWAN, R. F. Inibição in vitro de fungos toxigênicos por *Pichia* sp. e *Debaryomyces* sp. isoladas de frutos de café (*Coffea arabica*). **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 397-402, 2010.

RAMOS-GARZA, J.; AGUIRRE-NOYOLA, J. L.; BUSTAMANTE-BRITO, R.; ZELAYA-MOLINA, L. X.; MALDONADO-HERNANDEZ, J.; MORALES-ESTRADA, A. I.; RESENDIZ-VENADO, Z.; PALACIOS-OLVERA, J.; ANGELES-GALLEGOS, T.; TERREROS-MOYSEN, P.; CORTES-CARVAJAL, M.; MARTINEZ-ROMERO, E. Mycobiota of mexican maize landraces with auxin-producing yeasts that improve plant growth and root development. **Plants**, v. 12, n. 6, a. 1328, 2023.

SAIJO, Y.; LOO, E. P.; YASUDA, S. Pattern recognition receptors and signaling in plant–microbe interactions. **The Plant Journal**, v. 93, n. 4, p. 592-613, 2017.

SARABIA, M.; CAZARES, S.; GONZALEZ-RODRIGUES, A.; MORA, F.; CARREON-ABUD, Y.; LARSEN, J. Plant growth promotion traits of rhizosphere yeasts and their response to soil characteristics and crop cycle in maize agroecosystems. **Rhizosphere**, v. 6, p. 67-73, 2018.

SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. **Soja: do plantio à colheita.** 1ed. Viçosa: UFV, 2015. 333p.

SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; GODOY, C. V.; MEYER, M. C.; COSTAMILAN, L. M.; DIAS, W. P.; ALMEIDA, A. M. R. Manejo de doenças. In: SEIXAS, C. D. S.; NEUMAIER,

N.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LEITE, R. M. V. B. C. **Tecnologias de produção de soja.** Londrina: Embrapa Soja, 2020. cap. 10, p. 227-264.

SHARMA, S. K.; GUPTA, G. K.; RAMTEKE, R. *Colletotrichum truncatum* [(Schw.) Andrus & W.D.Moore], the causal agent of anthracnose of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] – A review. **Soybean Research**, v. 9, p. 31-52, 2011.

SPADARO, D.; DROBY, S. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. **Trends in Food Science & Technology**, v. 47, p. 39-49, 2016.

TIKAMI, I.; BOUFLEUR, T. R.; PRATAVIERA, F.; PANCIERA, L. G.; NEVES, V. H.; CIAMPI-GUILLARDI, M.; MASSOLA JÚNIOR, N. S. Survival of *Colletotrichum truncatum* as Microsclerotia in Soil. **Plant Disease**, v. 107, n. 8, p. 2460-2466, 2023.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 10ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 934p., 2012.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Leveduras para o biocontrole de fitopatógenos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. v. 3, cap. 2, p. 41-56.

YANG, H; HAUDENSHIELD, J. S.; HARTMAN, G. L. Multiplex real-time PCR detection and differentiation of *Colletotrichum* species infecting soybean. **Plant Disease**, v. 99, p. 1559-1568, 2015.

ZAMBOLIN, L.; CHAVES, G. M. Conceito de doenças em plantas. In: ZAMBOLIN, L.; JESUS JÚNIOR, W. C.; PEREIRA, O. L. **O essencial da fitopatologia: agentes causais.** Viçosa: UFV, 2012. cap. 1, p. 1-18.

ZHANG, X.; LI, B.; ZHANG, Z.; CHEN, Y.; TIAN, S. Antagonistic yeasts: A promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. **Journal of Fungi**, v. 6, a. 158, 2020.

ZHAO, L.; LAN, C.; TANG, X.; LI, B.; ZHANG, X.; GU, X.; ZHANG, H. Efficacy of *Debaryomyce hansenii* in the biocontrol for postharvest soft rot of strawberry and investigation of the physiological mechanisms involved. **Biological Control**, v. 172, a. 105011, 2022.