



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS



LUCAS ADLER MOURA NUNES LOPES

**SELEÇÃO DE LEVEDURAS ANTAGÔNICAS AO *Colletotrichum truncatum*,
AGENTE CAUSAL DA ANTRACNOSE EM *Phaseolus lunatus* L.**

RIO LARGO – AL

2024

LUCAS ADLER MOURA NUNES LOPES

**SELEÇÃO DE LEVEDURAS ANTAGÔNICAS AO *Colletotrichum truncatum*,
AGENTE CAUSAL DA ANTRACNOSE EM *Phaseolus lunatus L.***

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas junto ao Campus de Energias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Gildemberg Amorim Leal Junior

RIO LARGO – AL

2024

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

L864s Lopes, Lucas Adler Moura Nunes.

Seleção de leveduras antagônicas ao *Colletotrichum truncatum*, agente causal da antracnose em *Phaseolus lunatus* L. / Lucas Adler Moura Nunes Lopes. – 2024.

64f.: il.

Orientador: Gildemberg Amorim Leal Junior.

Dissertação (Mestrado em Proteção de plantas) – Programa de Pós -Graduação em Proteção de plantas, Área de concentração: Fitopatologia, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2024.

Inclui bibliografia.

1. Controle Biológico. 2. Metabólitos. 3. Controle alternativo. 4. Bioinsumos. 5. Sustentabilidade agrícola. I. Título.

CDU: 632.937

Folha de Aprovação

LUCAS ADLER MOURA NUNES LOPES

**SELEÇÃO DE LEVEDURAS ANTAGÔNICAS AO *Colletotrichum truncatum*,
AGENTE CAUSAL DA ANTRACNOSE EM *Phaseolus lunatus L.***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Área de concentração: Fitopatologia

Banca Examinadora:

Aprovado em: 15/07/2024

Documento assinado digitalmente
 GILDEMBERG AMORIM LEAL JUNIOR
Data: 23/11/2024 10:32:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Gildemberg Amorim Leal Junior - UFAL (Orientador)

Documento assinado digitalmente
 SARAH JACQUELINE CAVALCANTI DA SILVA
Data: 21/11/2024 09:32:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dra. Sarah Jacqueline Cavalcanti Da Silva - UFAL

Documento assinado digitalmente
 JULIO ALVES CARDOSO FILHO
Data: 23/11/2024 10:03:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Júlio Alves Cardoso Filho - UFAL

À memória de meu pai, José Edson, cuja influência moldou minha infância e despertou em mim a paixão pela agronomia. Ele, que precisou abandonar o curso devido à distância e às responsabilidades de sustentar a família, jamais perdeu o encantamento pelas plantas e pelos animais. Ainda guardo com carinho a lembrança do meu último aniversário ao seu lado, com o tema de peão, que foi o mais especial e continua vivo em minha memória como um símbolo do amor e dedicação que sempre demonstrou.

AGRADECIMENTOS

Manifesto minha profunda gratidão ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas (PPGPP) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio fundamental ao desenvolvimento deste projeto, viabilizado por meio do financiamento e da confiança depositada tanto no andamento das pesquisas quanto no meu trabalho. Agradeço, igualmente, a todos que contribuíram para a realização do meu mestrado em proteção de plantas, especialmente àqueles que estiveram ao meu lado nos momentos mais desafiadores, desempenhando um papel essencial nessa trajetória.

Agradeço ao professor Gildemberg Junior, mais conhecido como Jupará, pelas enriquecedoras contribuições na organização deste trabalho. Reconheço sua dedicação ao acompanhar meus experimentos, aos auxílios nas atividades laboratoriais e ao propor reflexões daqueles assuntos mais relevantes no contexto acadêmico. A disponibilidade de seu tempo voltada para a minha orientação, colaborou tanto para o meu aprendizado quanto para o meu crescimento profissional.

À senhorita Hilma Santos, também merecedora dos meus elogios, sou profundamente grato por que não media esforços para me auxiliar durante os momentos mais árduos, especialmente quando Cronos se mostrava mais imprevisível. Nossa parceria nas atividades práticas tornou as tarefas diárias, como a higienização de vidrarias e o empacotamento das placas de cultura, muito mais eficientes. E contar que, além de parceira, era uma amiga, me auxiliando no desembaraço dos nós que me impediam de progredir. Não tenho dúvidas de que sua presença foi indispensável ao longo desse percurso.

À Ana Paula manifesto meu intenso apreço por sua inspiração e paixão pelo universo das leveduras, que despertaram em mim o interesse por processos fermentativos envolvendo esses minúsculos fungos unicelulares. Sua expertise e vasto conhecimento me serviram como apoio para sanar dúvidas que surgiam enquanto me debruçava em minhas atividades diurnas no laboratório.

À Gabriela Cavalcante, possuidora de um humor reluzente, sou grato por suas orientações valiosas, tanto nas minhas apresentações quanto na escrita da minha dissertação. Sua contribuição ao disponibilizar artigos relevantes e prestar auxílio nas atividades da casa de vegetação, foi inestimável. Sua generosidade foi determinante para o enriquecimento do meu trabalho.

À Thaynnara Lira, minha primeira referência no laboratório, agradeço pelo compartilhamento de sua experiência adquirida no mestrado, me ensinando a esterilizar as ferramentas de trabalho e as formar de impedir a contaminação das placas de Petri. Sua orientação inicial foi decisiva para minha adaptação e crescimento no ambiente acadêmico.

Reconheço, também, o suporte incondicional da minha família, que foi minha base ao longo dessa caminhada, e o companheirismo dos colegas da instituição, que criaram um ambiente de aprendizado colaborativo e encantador.

Concluo reafirmando meu agradecimento a todos que tornaram essa caminhada possível. Suas contribuições foram fundamentais para minhas conquistas e formação, e sinto-me profundamente honrado por ter compartilhado essa experiência com pessoas tão dedicadas e inspiradoras.

Só em nós mesmos podemos mudar alguma coisa;
nos outros é uma tarefa quase impossível.

Carl Gustav Jung

RESUMO

O desenvolvimento de métodos de controle biológico é necessário para promover práticas agrícolas de controle de doenças mais sustentáveis ao meio ambiente e evitar riscos à saúde humana. Nesse contexto, as leveduras têm emergido como uma alternativa promissora para o controle biológico, devido a capacidade de inibir o crescimento de fungos filamentosos. A antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum* causa perdas na produção do feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) prejudicando o sustento da agricultura familiar na região nordeste. O estudo visou investigar a eficácia de leveduras antagonistas no combate ao agente causal da antracnose no feijão-fava. No estudo foi utilizada leveduras de uma coleção que representava leveduras que colonizavam a superfícies de frutos. As leveduras foram testadas em co-cultivo com o patógeno, avaliando o efeito antagônico em experimentos *in vitro* e o potencial para reduzir a severidade da doença nas folhas. Os ensaios *in vitro* foram realizadas com 41 leveduras e no final foram selecionadas 8 leveduras como maiores percentagens de inibição do crescimento micelial no confronto direto e pela produção de compostos voláteis. Na avaliação da redução da severidade da doença em casa de vegetação, a aplicação da levedura em condição protetiva, indicou que o isolado P1 foi o mais eficaz na inibição do crescimento do fungo. Algumas leveduras na avaliação da redução da severidade apresentaram resultados diferentes dos observados nos testes de inibição do crescimento micelial. Ressaltando a necessidade de estudos adicionais para entender melhor as interações entre antagonistas, patógenos e plantas, considerando que esses fatores podem influenciar e modificar o desenvolvimento do patógeno em condições naturais.

Palavras-chave: Controle Biológico; Metabólitos; Controle alternativo; Bioinsumos; Sustentabilidade agrícola.

ABSTRACT

The development of biological control methods is essential for promoting more environmentally sustainable agricultural practices and minimizing the risks to human health. In this context, yeasts have emerged as promising alternatives for biological control owing to their ability to inhibit the growth of filamentous fungi. Anthracnose, caused by the fungus *Colletotrichum truncatum*, leads to significant losses in Lima bean (*Phaseolus lunatus*) production, adversely affecting the livelihoods of family farmers in the northeastern region. This study aimed to evaluate the efficacy of antagonistic yeasts in controlling the causal agent of anthracnose in lima beans. The yeasts used in this study were sourced from a collection representing colonizing fruit surfaces. These yeasts were tested in co-cultivation with the pathogen, assessing their antagonistic effects *in vitro* and their potential to reduce disease severity in leaves. A total of 41 yeasts were screened through *in vitro* tests, of which eight were selected based on their high percentage of mycelial growth inhibition, both in direct confrontation and through the production of volatile compounds. In greenhouse trials assessing disease severity reduction, yeast application under protective conditions identified isolate P1 as the most effective at inhibiting fungal growth. Interestingly, some yeasts exhibited different results in disease severity reduction compared to their performance in mycelial growth inhibition tests. This underscores the need for further studies to understand better the complex interactions among antagonists, pathogens, and plants, as these factors may influence and modify pathogen development under natural conditions.

Keywords: Biological control; Metabolites; Alternative control; Bioinput; Agricultural sustainability.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Escala diagramática de severidade (porcentagem de área foliar afetada) da antracnose causada por *Colletotrichum lindemuthianum* do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) (GODOY et al., 1997). 33
- Figura 2** - Morfologia das colônias das linhagens selecionadas cultivadas em ágar nutriente WL (A) e morfologia da célula observada em microscópio ótica (B; 400 vezes)..... 34
- Figura 3** - Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com diferentes isolados de leveduras, em ensaio realizado in vitro. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 35
- Figura 4** - Porcentagem de inibição do crescimento radial (PICR) de *C. truncatum* co-cultivados com 15 linhagens de leveduras. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 36
- Figura 5** - Porcentagem de inibição do crescimento radial (PICR) de *C. truncatum* co-cultivados com 14 linhagens de leveduras. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 37
- Figura 6** - Valores de porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com os isolados selecionados. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 38
- Figura 7** - Valores da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) com sobrenadante incorporado no meio de cultura YEPD a 20%. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 39
- Figura 8** - Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com as cepas de leveduras sobre o efeito dos COVs com o método de estria no meio da placa. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 40
- Figura 9** - Valor da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com as cepas de leveduras efeitos dos COVs com o método de espalhamento de 30 µl de suspensão numa concentração de 1×10^8 de células UFC/mL. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 41
- Figura 10** - Valor da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com o isolado SAC nas concentrações 1.10^8 , 1.10^7 , 1.10^6 , 1.10^5 , 1.10^4 , 1.10^3 e 1.10^1 . As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 42
- Figura 11** - Valor da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com o isolado AM1 nas concentrações 1.10^8 , 1.10^7 , 1.10^6 , 1.10^5 , 1.10^4 , 1.10^3 e 1.10^1 . As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 43
- Figura 12** - Fotomicrografia de esporos do fungo *Colletotrichum truncatum*. A: Germinado; B: Não germinado. 44
- Figura 13** - Valores correspondentes à porcentagem de inibição da germinação conidial de *C. truncatum* sob co-cultivo com cepas de leveduras a 1×10^8 células UFC/mL e efeitos dos compostos orgânicos voláteis (COVs). As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 45
- Figura 14** - Severidade da Antracnose em folhas de *P. lunatus* foi avaliada com base na escala de notas de Godoy, após o uso de leveduras antagonistas ao *C. truncatum* como agentes protetores em condições de casa de vegetação. A severidade da doença foi avaliada 7 dias após

a inoculação do patógeno. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de <i>Tukey</i> ao nível de 5% de probabilidade.	46
Figura 15 - Folhas de <i>Phaseolus lunatus</i> tratadas com as leveduras e com sintomas de antracnose com base na escala de notas de Godoy.....	47
Figura 16 - A abscisão foliar por planta, causada pela antracnose em plantas de <i>P. lunatus</i> , foi analisada após o uso de leveduras antagônicas ao <i>C. truncatum</i> como agentes protetores em condições de casa de vegetação. A quantificação foi realizada dez dias após a inoculação. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de <i>Tukey</i> ao nível de 5% de probabilidade.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Isolados de leveduras obtidas de diferentes espécies de frutas e demais origens, a localidade da coleta, os códigos designados aos isolados e as características morfológicas das colônias em ágar nutriente Wallerstein Laboratory (WL).....	28
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 O Caminho para uma Agricultura Sustentável.....	16
2.2 Manejo biológico de patógenos de plantas.....	17
2.3 Uso de leveduras no controle biológico	19
2.4 Feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i> L.).....	23
2.5 Antracnose em <i>Phaseolus lunatus</i>	25
3 METODOLOGIA.....	27
3.1 Obtenção dos isolados de leveduras	27
3.2 Isolados de <i>C. truncatum</i>	29
3.3 Ensaio <i>in vitro</i> de antagonismo direto entre leveduras e <i>C. truncatum</i>	29
3.4 Ensaio <i>in vitro</i> com leveduras antagonicas selecionadas de acordo com PICR.....	30
3.5 Efeito de sobrenadantes livres de células das leveduras selecionadas no crescimento do <i>C. truncatum</i>	30
3.6 Potencial de Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) de Linhagens de Leveduras Selecionadas na Inibição do Crescimento de <i>Colletotrichum truncatum</i>	31
3.7 Potencial dos voláteis das linhagens de leveduras selecionadas em inibir a germinação conidial de <i>C. truncatum</i>	31
3.8 Eficácia do biocontrole dos antagonistas no manejo de infecções pelo fitopatógeno em casa de vegetação.....	32
3.9 Análise estatística	33
4 RESULTADOS	34
4.1 Avaliação da pureza de leveduras dos isolados da coleção.....	34
4.2 Seleção <i>in vitro</i> de levedura antagonicas ao <i>C. truncatum</i>	35
4.3 Avaliação <i>in vitro</i> da atividade antagonicas das leveduras selecionadas contra o <i>C. truncatum</i>	37
4.4 Determinação <i>in vitro</i> dos Mecanismos Antagônicos das leveduras com maior taxa de inibição Antagonistas	38
4.4.1 Efeito de sobrenadantes de cultivo no crescimento do <i>C. truncatum</i>	38
4.4.2 Efeitos dos Compostos Orgânicos Voláteis Antifúngicos (COVs)	39
4.4.2.1 Efeitos dos COVs no crescimento micelial de <i>C. truncatum</i>	39
4.4.2.1 Efeitos dos COVs na germinação de esporos de <i>C. truncatum</i>	43
4.5 Efeito protetivo das sete linhagens de leveduras selecionadas contra <i>C. truncatum</i>	45
5 DISCUSSÃO	49
6 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

O crescimento contínuo da densidade demográfica global tem gerado uma maior demanda por produtos agrícolas, e conseqüentemente, medidas de controle para doenças de plantas (SAATH; FACHINELLO, 2018). Em contrapartida, o uso excessivo dos agroquímicos tem acarretado prejuízos ao meio ambiente e à humanidade, além de contribuir para o surgimento de linhagens fúngicas resistentes aos ingredientes ativos dos fungicidas utilizados nas lavouras (KRETSCHMER; HAHN, 2008). O equilíbrio entre o aumento da produtividade agrícola e a preservação ambiental exige uma abordagem mais sustentável no manejo de doenças que priorize a redução do uso indiscriminado de agroquímicos mitigando os impactos negativos sobre o ecossistema e evitar o agravamento da resistência fúngica aos fungicidas.

Uma abordagem mais sustentável tem sido progressivamente adotada nos sistemas agrícolas. No Brasil, o registro de produtos biológicos está em expansão: foram 27 registros em 2011, 137 em 2018; 200 em 2019; e atingido 500 registros em 2022. O aumento da oferta produtos biológicos indicam a aceitação dos produtores agrícolas em adotar tecnologias mais sustentáveis (TORDIN, 2022). O crescimento é impulsionado pela crescente conscientização sobre os impactos ambientais negativos dos agrotóxicos e pela busca por alternativas que promovam a saúde do solo e das plantas (AL-AHMADI, 2019). Além disso, políticas governamentais e incentivos financeiros têm facilitado a adoção de práticas agrícolas sustentáveis, promovendo pesquisas e desenvolvimento de novas tecnologias biológicas (MOLOSSI *et al.*, 2023).

O controle biológico refere-se ao uso de agentes biológicos com o objetivo de restringir o desenvolvimento de doenças causadas por patógenos (O'BRIEN, 2017). Essa abordagem envolve a utilização de organismos vivos, como bactérias, fungos filamentosos e leveduras, que competem com os patógenos por espaço e nutrientes, ou produzem substâncias que inibem o crescimento dos agentes causadores de doenças (TSEGAYE *et al.*, 2018). Portanto, representa uma prática promissora na agricultura moderna, contribuindo para a proteção das plantas e a preservação do meio ambiente.

Entre os fungos, as leveduras têm sido reconhecidas como eficazes no combate a diversos patógenos de plantas devido à sua capacidade antagônica, podendo desempenhar um papel fundamental na redução do tamanho e do número de lesões nas plantas, além de inibir a esporulação de fungos nos tecidos do hospedeiro, proporcionando uma função protetora nos órgãos aéreos das plantas (STANGARLIN *et al.*, 2010). A leveduras são facilmente cultivadas em substratos líquidos, manipuladas em condições limitadas no processo de multiplicação, e

distinguem-se das bactérias contaminantes pelo seu tamanho, permitindo um controle de qualidade mais rigoroso e reduzindo o risco de contaminação cruzada durante o cultivo e a aplicação (KURTZMAN; FELL; BOEKHOUT, 2011b).

A utilização das leveduras como agente de controle biológico pode ser uma alternativa viável para os pequenos agricultores. Uma vez que reduz os custos em defensivos agrícolas e contribui de sobremaneira na preservação do solo e meio ambiente, favorecendo desta forma para uma produção mais sustentável e agregando conseqüentemente mais valor aos produtos no mercado. O feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) é uma das principais leguminosas cultivadas no Brasil, sendo de extrema relevância para a agricultura familiar, pois serve tanto como fonte de renda quanto como meio de subsistência para os produtores (CHEL-GUERRERO *et al.*, 2012; MOSES, 2012). A cultura se destaca por sua adaptabilidade a diferentes condições climáticas, tolerância ao encharcamento do solo e resistência a temperaturas elevadas, superiores às suportadas pelo feijão comum (GOMES *et al.*, 2020; LONG *et al.*, 2014; VIEIRA, 1992). No entanto, a ocorrência de doenças tem limitado a produtividade dessa cultura, especialmente a Antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*, considerada a mais importante (FIGUEIREDO, 2001; SILVA *et al.*, 2010a).

A antracnose causa danos em folhas, ramos e vagens, e, quando o ataque do patógeno é mais severo, causa redução da produtividade e queda no valor dos grãos comercializados (LOPES; GOMES; ARAÚJO, 2010). Embora o controle químico seja o método mais empregado para combater doenças foliares, seu uso torna-se frequentemente impraticável na agricultura familiar, devido ao alto custo envolvido (HENNING *et al.*, 2014). Além disso, a aplicação de defensivos agrícolas em excesso vem sendo cada vez mais questionada pelos impactos negativos que provoca, tanto no meio ambiente quanto na saúde humana (HILLEN *et al.*, 2012). Dessa forma, a utilização de agentes biológicos surge como uma alternativa viável para o controle de doenças fúngicas foliares e atende à crescente demanda dos consumidores por alimentos isentos de resíduos químicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Caminho para uma Agricultura Sustentável

A crescente preocupação com os impactos ambientais e a busca por práticas agrícolas ecologicamente viáveis impulsionam o interesse em estratégias de manejo que reduzam a dependência de produtos químicos (KOWALSKA; KRZYMIŃSKA; TYBURSKI, 2022). A substituição gradual de fungicidas químicos por agentes biológicos representa, assim, uma resposta positiva a esses desafios, proporcionando benefícios tanto para a saúde do solo quanto para a qualidade dos produtos agrícolas (SPADARO; DROBY, 2016). Essa abordagem não apenas proporciona uma gestão mais sustentável e amigável ao meio ambiente, mas também promove a preservação da biodiversidade nos ecossistemas agrícolas.

Com o aumento populacional e a crescente demanda por produtos agropecuários, torna-se essencial implementar agentes químicos no controle de doenças fitopatogênicas para manter a produtividade agrícola. O controle químico é especialmente importante em países de clima tropical, onde as condições quentes e úmidas favorecem a proliferação de microrganismos nocivos às plantas. A intensificação do uso do controle químico resulta em casos de intoxicação, devido às lentas taxas de biodegradação dos princípios ativos e à persistência de seus derivados tóxicos no ambiente, acarretando riscos para o bem-estar dos agricultores, consumidores e o meio ambiente (GOND *et al.*, 2010). O uso em excesso de fungicidas pode levar a seleção de populações de fitopatógenos resistentes aos princípios ativos, demandando doses mais elevadas ou a aplicação de compostos mais tóxicos (LEROUX; WALKER, 2013; VELA-CORCÍA *et al.*, 2019). O acúmulo dos princípios ativos nos agroecossistema resulta em desequilíbrios na microbiota da parte aérea e do solo, impactando a fisiologia da planta e afetando a fertilidade (SYED AB RAHMAN *et al.*, 2018).

A preferência dos consumidores nos últimos anos tem se voltado para os valores éticos no processo produtivo e no abastecimento, e nesse contexto, tanto os consumidores quanto a comunidade científica têm priorizado a tecnologia verde, destacando-se alimentos de alto valor agregado, procedência adequada e qualidade diferenciada (LIMA *et al.*, 2020). Por esta razão, a utilização de agentes biológicos em substituição aos fungicidas químicos destaca-se como uma alternativa eficaz para o controle de doenças fúngicas (KHUNNAMWONG *et al.*, 2020).

2.2 Manejo biológico de patógenos de plantas

O controle biológico refere-se ao uso de organismos vivos, como microrganismos, insetos, plantas daninhas e nematoides, com o objetivo de reduzir as populações de patógenos de plantas e pragas agrícolas, garantindo a proteção dos cultivos e promovendo práticas agrícolas sustentáveis (BAKER; GREEN; LOKER, 2020). Os principais microrganismos utilizados no biocontrole, destacam-se o *Bacillus thuringiensis* (Bt), uma bactéria eficaz contra lepidópteros por produzir proteínas cristalinas tóxicas (BRAVO *et al.*, 2011; PARDO-LÓPEZ; SOBERÓN; BRAVO, 2013). Os fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* são amplamente empregados no combate a insetos-praga (AULD, 2002; ZIMMERMANN, 2007). Além disso, os baculovírus, específicos para insetos, representam uma alternativa ambientalmente segura para o controle de pragas como a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) (HERNIOU *et al.*, 2003; SZEWCZYK *et al.*, 2006).

No que se refere ao controle de microrganismos fitopatogênicos, os fungos do gênero *Trichoderma* são amplamente reconhecidos por sua capacidade de suprimir patógenos de plantas, ao mesmo tempo que promovem o crescimento vegetal, proporcionando uma dupla função no manejo de doenças (HARMAN, 2006; VINALE *et al.*, 2008). No grupo das bactérias, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Pseudomonas fluorescens* se destacam por sua ação contra fitopatógenos como *Colletotrichum gloeosporioides* (ASHWINI; SRIVIDYA, 2014), *Pythium ultimum* (LARA-CAPISTRAN *et al.*, 2020) e *Ralstonia solanacearum* (CHAKRAVARTY; KALITA, 2012) através da produção de compostos antimicrobianos, promoção do crescimento e resistência sistêmica induzida.

O controle biológico de doenças visa reduzir a quantidade de inóculos e, por conseguinte, os sintomas na planta, buscando minimizar os efeitos prejudiciais dos pesticidas nos alimentos e no meio ambiente (HE *et al.*, 2021; LLORENS; AGUSTÍ-BRISACH, 2022). O controle biológico pode envolver a utilização de inoculantes microbianos para combater um tipo ou classe específica de doenças de plantas (HAMDI; ALZAWI, 2023). Em determinadas situações, quando a aplicação exclusiva de leveduras não for suficiente, pode-se recorrer à combinação com fungicidas químicos de baixo risco, substâncias antimicrobianas naturais e métodos físicos, como a rotação de culturas, a remoção de restos culturais e o aumento do espaçamento entre as plantas (DROBY *et al.*, 2009).

Os microrganismos utilizados no biocontrole de doenças exibem uma ampla diversidade de mecanismos de atuação, classificados predominantemente em duas categorias principais:

ação direta e indireta. No primeiro caso, os microrganismos antagonistas compartilham o mesmo ambiente ecológico que o patógeno, estabelecendo interações diretas por meio de parasitismo, antibiose, secreção de enzimas hidrolíticas e compostos orgânicos voláteis (COVs) e competição por espaço e nutrientes. Na ação indireta, o agente induz uma resposta de resistência no hospedeiro, conferindo proteção contra eventuais fitopatógenos. A reação induzida é similar à resposta de defesa desencadeada por uma estirpe menos virulenta do fitopatógeno. A reação pode também ser ativada por outros tipos de microrganismos, como fungos filamentosos e bactérias, ou pela aplicação de partes ou substâncias produzidas pelo agentes de biocontrole (ZHANG *et al.*, 2017).

Os desafios para desenvolver um biocontrole que possa competir com os fungicidas incluem a necessidade de oferecer benefícios econômicos aos agricultores. Os produtos de biocontrole devem garantir uma viabilidade celular prolongada, manter a eficiência durante vários meses de armazenamento e apresentar compatibilidade com tratamentos químicos e físicos (SLININGER *et al.*, 2003). Um dos desafios para a aceitação do controle biológico é a eficácia do produto no campo. O controle biológico muitas vezes apresenta uma eficácia insatisfatória em ambientes comerciais, sendo comum empregá-los em conjunto com compostos químicos, ainda que em concentrações mais baixas, para atingir níveis consistentemente elevados de eficácia (MAJUMDAR, 2023). Necessitando de uma contínua busca e seleção de agentes eficientes que atendam as demandas do mercado.

Uma série de requisitos específicos é necessário para que o biocontrole seja considerado eficiente e competitivo. As características essenciais de um insumo de origem biológica ideal incluem estabilidade genética, eficácia em concentrações reduzidas, requisitos nutricionais simples, capacidade de sobreviver em condições ambientais adversas, crescimento em fermentadores utilizando meios de cultivo de baixo custo, ausência de patogenicidade para a planta hospedeira, incapacidade de produzir metabólitos que possam ser potencialmente prejudiciais para a saúde humana e resistência aos pesticidas mais comuns (KONSUE; DETHOUP; LIMTONG, 2020; STEN; DIENGGAN; DAS, 2016). Portanto, um biocontrole com essas propriedades pode oferecer uma solução eficiente, segura e sustentável para a proteção das culturas agrícolas.

2.3 Uso de leveduras no controle biológico

As leveduras são fungos unicelulares que evoluíram de maneira convergente a partir de fungos filamentosos pertencentes aos filos Ascomycota e Basidiomycota (NAGY *et al.*, 2014). Embora cerca de 2.000 espécies de leveduras já tenham sido descritas, muitas ainda possuem posições taxonômicas incertas (BOEKHOUT *et al.*, 2022). Esses organismos, originados de múltiplos clados de fungos com relações distantes entre si, incluem espécies que passam toda ou grande parte do ciclo de vida em uma forma unicelular (DUJON, 2010; KURTZMAN; FELL; BOEKHOUT, 2011b). Contudo, em certas condições, algumas espécies, predominantemente unicelulares, podem desenvolver crescimento filamentosos, assim como fungos que normalmente são filamentosos podem assumir a forma de levedura em situações específicas, evidenciando o fenômeno conhecido como dimorfismo (BASTIDAS; HEITMAN, 2009; SÁNCHEZ-MARTÍNEZ; PÉREZ-MARTÍN, 2001).

As leveduras mais conhecidas pertencem ao filo *Ascomycota* e incluem *Saccharomyces cerevisiae*, amplamente utilizada na fermentação alcoólica e na panificação (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2021). Outras espécies são *Pichia* e *Schizosaccharomyces*, estas com relevância tanto na indústria alimentícia quanto em processos biotecnológicos (MAICAS; MATEO, 2023). A maior parte das leveduras benéficas ao ser humano pertence ao filo *Ascomycota*. Entre as espécies mais relevantes, além da *S. cerevisiae*, encontra-se a *Candida kefyr*, amplamente empregada na produção de laticínios fermentados devido ao seu potencial probiótico, favorecendo a saúde intestinal e o equilíbrio da microbiota (APALOWO *et al.*, 2024). A *Pichia pastoris*, essencial nas indústrias farmacêutica e biotecnológica por sua eficiência na produção de proteínas recombinantes, com destaque para enzimas industriais e proteínas terapêuticas (KARBALAEI; REZAEI; FARSIANI, 2020). A *Kluyveromyces marxianus*, aplicada na produção de bioetanol e no processamento de derivados do leite, além de fermentar resíduos agroindustriais, reduzindo custos e impactos ambientais (BILAL *et al.*, 2022). Por fim, a *Yarrowia lipolytica*, tendo aplicações em biocombustíveis e biorremediação por sua capacidade de degradar lipídios, além de ser utilizada na síntese de ácidos orgânicos e compostos aromáticos nas indústrias alimentícia e ambiental (MAMAIEV; ZVYAGILSKAYA, 2021).

Algumas espécies são patogênicas aos seres humanos, a *Candida albicans* é um importante patógeno humano (SANTOS *et al.*, 2022). No filo Basidiomycota, destacam-se *Cryptococcus neoformans*, um patógeno capaz de causar infecções graves em pessoas com o sistema imunológico comprometido (SILVA *et al.*, 2023), e *Rhodotorula*, cujas espécies são

frequentemente encontradas em ambientes aquáticos e podem atuar como agentes oportunistas em infecções (WIRTH; GOLDANI, 2012). Outro exemplo relevante de levedura basidiomiceta é *Malassezia*, conhecida por sua associação a doenças de pele, como a dermatite seborreica (SAUNTE; GAITANIS; HAY, 2020).

As leveduras, como a *S. cerevisiae*, desempenham papel essencial na decomposição de substratos vegetais, possibilitando sua aplicação em biorrefinarias para a produção de combustíveis renováveis (KRICKA; FITZPATRICK; BOND, 2014). A *Candida utilis* auxilia na reciclagem de nutrientes, como carbono e nitrogênio, facilitando o processamento de resíduos orgânicos e sua disponibilidade para as plantas (BZDUCHA-WRÓBEL *et al.*, 2024; KAUR; VYAS, 2024). *Cryptococcus laurentii* e *Rhodotorula glutinis* (SLÁVIKOVÁ; VADKERTIOVÁ; VRÁNOVÁ, 2009), bem como por *Candida tropicalis* e *Candida guilliermondi* (CHEN; LIU, 2024), colonizam respectivamente folhas e raízes, promovendo interações simbióticas com as plantas hospedeiras. Além disso, são encontradas em frutos, néctar de flores e trato digestivo de insetos, devido à presença de açúcares simples, ácidos orgânicos e outros compostos prontamente assimiláveis (AHANSAL *et al.*, 2008; GLUSHAKOVA; YURKOV; CHERNOV, 2007; KURTZMAN; FELL; BOEKHOUT, 2011a).

Desde os primórdios da civilização as leveduras têm beneficiado a humanidade na alimentação, proporcionando não apenas o pão, mas também o queijo, o vinho e a cerveja. Atualmente, destacam-se como biorreatores para produção de diversos fármacos, como insulina humana, hormônios de crescimento, fator de crescimento epidérmico, interleucina 2, enzimas digestivas e vacinas (MA; DRAKE; CHRISTOU, 2003). Além de salvar vidas, também produzem bilhões de litros de biocombustíveis, ajudando a desacelerar as mudanças climáticas (MONEY, 2021). Ademais, desempenham um papel importante na agricultura, atuando no controle biológico de doenças nas plantações (JOHNSON; ECHAVARRI-ERASUN, 2011).

Na década de 1960, aconteceu a primeira iniciativa para empregar leveduras do filo Ascomycota no combate a fungos e bactérias, visando controlar microrganismos associados a deterioração de alimentos. Essa ideia surgia a partir de observações que determinadas cepas da *S. cerevisiae* produziam compostos antimicrobianos, também conhecidos como proteínas *killers*, capazes de eliminar cepas sensíveis da mesma espécie que não possuíam imunidade a essas toxinas (GEORGESCU; CORBU; CSUTAK, 2024; SÃO-JOSÉ; SANTOS; SCHMITT, 2017).

Fungos saprofíticos podem causar problemas de saúde tanto direta quanto indiretamente, provocando alergias e infecções oportunistas, além de problemas decorrentes da ingestão ou contato com substâncias tóxicas que produzem (MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2010). Desta forma, o uso de um agente de biocontrole deve ser de forma segura a saúde humana. A maioria das leveduras são micro-organismos não patogênicos com exigências nutricionais simples, que não produzem esporos alergênicos, micotoxinas ou metabólitos secundários (KONSUE; DETHOUP; LIMTONG, 2020).

No contexto do uso de biocontrole para doenças fitopatogênicas, as leveduras são especialmente importantes devido à sua capacidade de crescer e colonizar uma ampla variedade de substratos, como frutas, vegetais e cereais, se adaptar a diferentes condições, como variações de temperatura, pH e disponibilidade de nutrientes, e manter sua atividade por períodos prolongados, que podem se estender de semanas a meses (MUCCILLI; RESTUCCIA, 2015; SPADARO; DROBY, 2016). Alguns leveduras são conhecidas por estimular o crescimento das plantas por meio da produção de auxinas, como o ácido indole-3-acético (AIA), incluindo espécies como *Rhodosporidium paludigenum*, *S. cerevisiae*, *Aureobasidium pullulans*, *Candida sp.*, *Dothideomycetes sp.*, *Hanseniaspora uvarum*, *Meyerozyma caribbica*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Torulasporea sp.*, *Barnettozyma californica*, *Cryptococcus laurentii*, *Rhodosporidiobolus fluvialis*, *Candida maltosa* e *Pichia kudriavzevii* (BUNSANGIAM *et al.*, 2019; FERNANDEZ-SAN MILLAN *et al.*, 2020; FU *et al.*, 2016; LIMTONG; KOOWADJANAKUL, 2012; MUKHERJEE; SEN, 2015; NUTARATAT *et al.*, 2016; PRABINA *et al.*, 2019; RAO *et al.*, 2010). Ademais, as espécies *Williopsis californica*, *S. cerevisiae*, *P. diana* e *M. guilliermondii* têm a capacidade de fornecer nutrientes essenciais, como nitrogênio, fósforo e potássio, desempenhando uma função importante na regulação dos processos fisiológicos e favorecendo o desenvolvimento saudável das plantas (FALIH; WAINWRIGHT, 1995; FERNANDEZ-SAN MILLAN *et al.*, 2020; FU *et al.*, 2016; MUKHERJEE; SEN, 2015).

Entre os exemplos relevantes do uso de leveduras como agentes de controle biológico no combate à antracnose, destacam-se a aplicação de *Meyerozyma caribbica* (BAUTISTA-ROSALES *et al.*, 2013), *Cryptococcus laurentii* (BAUTISTA-ROSALES *et al.*, 2014), *Papiliotrema aspenensis* (KONSUE; DETHOUP; LIMTONG, 2020) e *Metschnikowia pulcherrima* (TIAN *et al.*, 2018) no controle pós-colheita de mangas. Também merecem menção as leveduras *Trichosporon asahii* (HASSAN *et al.*, 2021), *Wickerhamomyces anomalus* e *Meyerozyma guilliermondii* na pós-colheita de mamões (LIMA *et al.*, 2013). Além

disso, existe o uso de *S. cerevisiae* na pós-colheita de uvas (LIU *et al.*, 2018) e *Pichia guilliermondii* na pós-colheita de pimentas (CHANCHAICHAOVIVAT; RUENWONGSA; PANIJPAN, 2007). No contexto da pré-colheita, houve um efeito positivo na redução significativa da doença com o uso de *Torulaspora globosa* e *Candida intermedia* em folhas de sorgo e milho para combater *Colletotrichum sublineolum* e *Colletotrichum graminicola* (ROSA-MAGRI; TAU-K-TORNISIELO; CECCATO-ANTONINI, 2011), além de *S. cerevisiae* em folhas de sorgo no combate a *C. sublineolum* (PICCININ; DI PIERO; PASCHOLATI, 2005).

Apontados como promissoras no controle de doenças fitopatogênicas, as leveduras e os fungos semelhantes às leveduras podem ser cultivados em tanques fermentadores na propriedade agrícola, utilizando substratos de baixo custo e acessíveis aos agricultores (SPADARO *et al.*, 2010). Uma considerável porção de leveduras se multiplica rapidamente em ambientes ricos em carboidratos, nutrindo-se dos açúcares disponíveis, gerando compostos antimicrobianos e limitando a colonização de outros organismos (DUGAN; ROBERTS, 1994; YEHIA *et al.*, 2022).

Os métodos utilizados para a identificação e classificação de espécies de leveduras têm se baseado em características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas das espécies (BARNETT, 2000). Além de técnicas moleculares baseadas no DNA ribossomal, que incluem as regiões codificantes 5S, 5.8S, 18S e 26S (domínio D1/D2), assim como as regiões não codificantes ITS (Espaçadores Internos Transcritos) e IGS (Espaçadores Intergênicos) (TURGUT GENÇ; GÜNAY, 2020).

As regiões codificantes do DNA ribossomal (rDNA), como 5S, 5.8S, 18S e 26S, são partes altamente conservadas que codificam componentes essenciais dos ribossomos, responsáveis pela síntese de proteínas. Elas são usadas principalmente para identificar e classificar organismos em níveis mais amplos, como gêneros ou famílias, devido à sua estabilidade evolutiva. Entre essas, o domínio D1/D2 do gene 26S é particularmente útil para distinguir espécies de leveduras (KURTZMAN, 2006).

Por outro lado, as regiões não codificantes, como os Espaçadores Internos Transcritos (ITS) e os Espaçadores Intergênicos (IGS), são muito mais variáveis, acumulando mutações com mais frequência. Isso as torna ferramentas ideais para identificar e diferenciar organismos em níveis mais específicos, como espécies ou até mesmo cepas. A região ITS, em particular, é amplamente usada para identificação precisa de fungos e leveduras, enquanto o IGS é aplicado

em estudos de diversidade genética e discriminação de populações (CHALUPOVÁ *et al.*, 2014).

Dessa forma, as leveduras são organismos versáteis e fundamental em diversas áreas, desde a alimentação até a agricultura. A capacidade das leveduras em colonizar tecidos vegetais e produzir compostos antimicrobianos destaca sua importância no controle biológico de fitopatógenos. A utilização de leveduras no biocontrole é, portanto, uma alternativa promissora e eficaz, especialmente em condições ambientais adversas. Esta abordagem sustentável não apenas beneficia a produtividade agrícola, mas também promove práticas mais ecológicas e economicamente viáveis principalmente para cultura com baixo suporte tecnológico e assistência técnica com as culturas de subsistência cultivadas por agricultores familiares.

2.4 Feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.)

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), também conhecido como fava, feijão-de-lima, fava lima, feijão rajada (JUNQUEIRA; OLIVEIRA; MASCARENHAS, 2010; NOBRE *et al.*, 2012) é uma cultura de subsistência típica da agricultura familiar da região nordeste. A cultura é fonte de carboidrato, proteína e renda para os produtores rurais. O *P. lunatus* pertence à família Fabaceae, que engloba 643 gêneros e 18.000 espécies distribuídas por todo o mundo, em particular nas regiões tropicais e subtropicais (BROUGHTON *et al.*, 2003). A espécie está adaptada aos trópicos de terras baixas, especialmente os solos altamente lixiviados e inférteis das regiões mais úmidas, mas prefere solos neutros (pH 6-7) bem drenados e arejados (AREMU; IBRAHIM; EKANEM, 2016; ARTTAWUTTIKUN *et al.*, 2019). Com origens na América tropical, a domesticação do feijão-fava ocorreu na Mesoamérica e nos Andes entre 8000 e 10000 anos atrás (ANDUEZA-NOH *et al.*, 2016), disseminando-se para a América do Norte, América do Sul, Europa, leste e oeste da África e o sudeste da Ásia (AMBIKA *et al.*, 2022; BAUDOIN, 1988).

O *P. lunatus* se divide em dois grupos genéticos distintos: o Mesoamericano e o Andino. O grupo Mesoamericano abrange genótipos de sementes pequenas, que surgiram na América Central e se espalharam para o sul dos Estados Unidos, ilhas do Caribe e nordeste do Brasil. Já o grupo Andino compreende genótipos de sementes grandes, mais comuns na América do Sul, especialmente nas regiões áridas da costa peruana ao sul de Lima (BAUDOIN, 1988; SHERASIA *et al.*, 2017).

No Brasil, o feijão-fava, *P. lunatus*, é considerada a segunda leguminosa mais importante do gênero devido ao seu alto teor proteico, além da resistência à seca, calor e umidade excessiva, ficando atrás apenas do feijão comum, *Phaseolus vulgaris* L. (VIEIRA, 1992; ARAUJO *et al.*, 2017). O feijão-fava, cultivado majoritariamente por agricultores familiares, têm demonstrado significativa capacidade produtiva, especialmente com o avanço das tecnologias agrícolas e o aumento do suporte fornecido por órgãos de pesquisa e extensão rural (BARBOSA; ARRIEL, 2018; GOMES *et al.*, 2022).

Em 2022, o Brasil produziu 12.061 toneladas de grãos de feijão-fava. A região Nordeste foi responsável por 99,6% da produção, consolidando como a região mais produtora do país. O estado do Ceará se destacou como o maior produtor, alcançando um rendimento médio de grãos de 275 kg/ha⁻¹. Alagoas ficou na sexta colocação, cobrindo uma área colhida de 528 ha, com uma produção média de 488 toneladas e um rendimento médio de 924 kg/ha⁻¹ (IBGE, 2022).

Reconhecida por seu alto valor nutricional, a *P. lunatus* apresenta grãos com teor de amido variando entre 56 e 60%, atingindo também uma marca de 26% de proteína (OGUNJI; ABDEL-KAREEM; OSUIGWE, 2003; AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003; SANTOS *et al.*, 2010; CHEL-GUERRERO *et al.*, 2011). As vagens e os grãos são encontrados no mercado como vegetais frescos, enlatados e congelados, oferecem a versatilidade de serem cozidos no vapor, fervidos e assados (SMALL, 2009). Essas opções permitem servi-los como acompanhamento, adicioná-los a ensopados e sopas. Além disso, os brotos do feijão constituem outra opção alimentar (SMALL, 2009). Algumas variedades de *P. lunatus* podem conter em seus grãos uma concentração de até 200 mg/kg de ácido cianídrico (HCN) (WAITE-CUSIC, 2019). No entanto, após serem cozidos de três a cinco vezes, tornam-se seguros para o consumo (AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003). Essa característica é de extrema importância tanto no comércio quanto no valor do produto (SILVA *et al.*, 2010a).

O método de cultivo adotado nas lavouras, que se baseia no consórcio com outras culturas e no uso de pequenos lotes de terra, contribui para diminuir a incidência de ataques de insetos e pode até eliminar a necessidade de inseticidas na propriedade (ALVES, 2006; SILVA *et al.*, 2010b). No entanto, a produtividade dessa cultura é impactada pela ocorrência de doenças, sendo a antracnose a mais importante (ASSUNÇÃO *et al.*, 2011; NASCIMENTO *et al.*, 2017).

2.5 Antracnose em *Phaseolus lunatus*

A antracnose no *P. lunatus* é considerada uma das doenças mais agressivas que afeta essa cultura. A doença é causada principalmente pelo fungo *Colletotrichum truncatum* (NASCIMENTO *et al.*, 2017). Além do *C. truncatum*, outros fungos como *C. brevisporum*, *C. lobatum*, *C. plurivorum*, *C. musicola*, *C. clivae* e *C. fructicola* podem ser os agente causais da antracnose em *P. lunatus* (SOUSA *et al.*, 2018). O gênero *Colletotrichum* possui uma ampla distribuição geográfica e tem a capacidade de infectar diversas leguminosas, incluindo soja, lentilha, ervilha e grão-de-bico (ROBERTS; PERNEZNY; KUCHARAK, 2012; ROGÉRIO *et al.*, 2017; WEIDEMANN, 1988).

O gênero *Colletotrichum* é classificado dentro dos fungos anamórficos, pertencendo à classe Sordariomycetes, ordem Glomerellales e família Glomerellaceae (KIRK *et al.*, 2009). Nesse gênero são reconhecidas 280 espécies, identificadas com base em dados moleculares. Entre elas, 15 espécies são consideradas isoladas, enquanto as outras 265 são organizadas em 16 complexos, como *C. gloeosporioides*, *C. gigasporum*, *C. boninense*, *C. acutatum*, *C. graminicola*, *C. caudatum*, *C. spaethianum*, *C. destructivum*, *C. dematium*, *C. truncatum*, *C. orbiculare*, *C. dracaenophilum*, *C. magnum*, *C. orchidearum*, *C. agaves* e *C. bambusicola* (LIU *et al.*, 2022; SILVA-MATOS; SOUSA; MORAES, 2022; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021).

A espécie *C. truncatum* apresenta hifas vegetativas são hialinas e septadas. Os conidióforos variam de hialinos a marrom-claros, e os conídios são hialinos, lisos ou ligeiramente rugosos, curvados e com extremidades arredondadas ou afiladas. Apresenta acérvulos pretos, dispersos ou em grupos, com setas de cor marrom-escuro. Os apressórios são marrons e lobulados, com formato variando de arredondado a elipsoidal (ZHANG *et al.*, 2023).

O *C. truncatum* sobrevive nos restos de culturas anteriores, sendo disseminado principalmente por sementes contaminadas, ventos e respingos de chuva (MANANDHAR, 1985; NECHET *et al.*, 2003). As condições ideais para seu desenvolvimento e esporulação incluem temperaturas entre 25°C e 30°C, com máxima intensidade da doença ocorrendo a 28,4°C, umidade relativa média de 76%, e precipitação de 92,5 mm (CHATTOPADHYAY; KOLTE; WALIYAR, 2015; JÚNIOR *et al.*, 2021). As condições climáticas da região Nordeste do Brasil, caracterizadas por altas temperaturas e umidade, favorecem a esporulação e a propagação do patógeno, aumentando a incidência de doenças como a antracnose em culturas

agrícolas como a soja e o feijão-fava (DIAS *et al.*, 2019; DIAS; PINHEIRO; CAFÉ-FILHO, 2016).

Os sintomas da antracnose no feijão-fava incluem manchas avermelhadas na face inferior das folhas, hastes e pecíolos jovens (DOS SANTOS SIQUEIRA GOMES *et al.*, 2023). Nas vagens, a infecção se manifesta por lesões necróticas e pardacentas, com presença de acérvulos do patógeno, resultando em necroses no hipocótilo e nas nervuras (NOETZOLD *et al.*, 2014). À medida que a doença avança, as folhas tornam-se encarquilhadas, as plantas ficam subdesenvolvidas, e ocorre a queda das folhas (BESSERA JR; BARGUIL, 2021; COSTA, 1986).

Entre as principais estratégias para reduzir a incidência da antracnose e minimizar suas perdas, destaca-se o emprego de cultivares mais resistentes, a adoção de práticas culturais apropriadas, como a rotação de culturas e a reposição adequada de nutrientes ao solo, além do uso de fungicidas, que podem ser aplicados de maneira complementar para reforçar o controle da doença (MÉLO-FILHO; GUENTHER, 2015).

O que deve ser evitado é o uso de fungicidas com mecanismos específicos de ação, uma vez que o seu uso repetitivo aumenta a pressão seletiva sobre os fungos, favorecendo o surgimento de linhagens resistentes. Portanto, uma simples alteração das proteínas alvo do fungicida é suficiente para conferir resistência ao patógeno, comprometendo a eficácia do tratamento (MA; MICHAILIDES, 2005).

A fim de mitigar esse problema é fundamental monitorar a eficácia dos fungicidas, permitindo o desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficientes. Além disso, existem evidências que o uso de misturas de fungicidas, como fludioxonil e ciprodinil, pode proporcionar um controle mais eficiente contra a antracnose, causada pelo *C. truncatum*, diminuindo o risco de surgimento de resistência aos fungicidas (ROGÉRIO *et al.*, 2024; TORRES-CALZADA *et al.*, 2015).

Os fungicidas disponíveis no mercado são: Alade[®], uma associação de Benzovindiflupyr (pirazol carboxamida), ciproconazol (triazol) e difenoconazol (triazol); Fitter[®], uma associação de ciprodinil (anilinopirimidina) e fludioxonil (fenilpirrol); Mitrion[®], uma associação de Benzovindiflupyr (pirazol carboxamida) e Protioconazol (Triazolinthione); e Switch[®], uma associação de ciprodinil (anilinopirimidina) e fludioxonil (fenilpirrol) (AGROFIT, 2024).

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção dos isolados de leveduras

No estudo foram utilizadas 41 leveduras obtidas da coleção da clínica de Fitossanidade do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (Tabela 1). As leveduras foram isoladas de frutos como jambo (*Syzygium jambos*), graviola (*Annona muricata*), pitanga (*Eugenia uniflora*), goiaba (*Psidium guajava*), amora (*Rubus subg. Rubus*), jaboticaba (*Plinia cauliflora*), jambo albino (*Syzygium aqueum*), acerola (*Malpighia emarginata*), caju (*Anacardium occidentale*), manga (*Mangifera indica*), brinco-de-viúva (*Syzygium cumini*), além da gramínea cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). As leveduras estavam conservadas em tubos fechados contendo meio YEPD (Extrato de levedura, 10 g/L; peptona, 20 g/L; glicose, 20 g/L; e ágar, 20 g/L) e mantidos a 5°C em geladeira. As culturas puras foram conservadas em tubos *Slants* com meio YEPD, mantidas à temperatura de 4°C em geladeira e devidamente identificadas quanto à procedência e de acordo com características morfológicas manifestadas em meio ágar nutriente Wallerstein Laboratory (WL).

Tabela 1 - Isolados de leveduras obtidas de diferentes espécies de frutas e demais origens, a localidade da coleta, os códigos designados aos isolados e as características morfológicas das colônias em ágar nutriente *Wallerstein Laboratory* (WL).

Nº	Origem	Localização	Códigos	Característica Morfológica
1	Fleischmann	x-x-x-x	SAC	Creme Brilhante, Lisa e Pequena
2	Acerola	CECA	ACE1	Creme Lisa e Grande
3	Acerola	CECA	ACE2	Creme Escura, Lisa e Pequena
4	Amora	CECA	AM1	Escura, Lisa e Grande
5	Amora	CECA	AM2	Verde-Clara e Lisa
6	Amora	CECA	AM3	Verde, Borda Transparente e Grande Espalhada
7	Brinco-de-viúva	CECA	BV1	Borda Verde-Clara e Transparente
8	Brinco-de-viúva	CECA	BV2	Verde, Borda Verde-Clara e Lisa
9	Brinco-de-viúva	CECA	BV3	Verde, Borda Branca, Lisa e Pequena
10	Brinco-de-viúva	CECA	BV4	Creme, Lisa e Pequena
11	Brinco-de-viúva	CECA	BV5	Branca, Lisa e Pequena
12	Brinco-de-viúva	CECA	BV6	Verde-Escura, Lisa e Grande
13	Brinco-de-viúva	CECA	BV7	Verde-Clara, Centro Liso e Médio
14	Cambuí	CECA	CAMB1	Verde, Borda Escura, Lisa e Média
15	Cambuí	CECA	CAMB2	Amarela-Esverdeada, Lisa e Média
16	Cana-de-açúcar	CECA	CAN1	Verde-Escura Mesclada, Lisa e Média
17	Cana-de-açúcar	CECA	CAN2	Creme, Transparente, Lisa e Grande
18	Casca de cajueiro	CECA	CC1	Creme, Lisa e Média
19	Casca de cajueiro	CECA	CC2	Centro Escuro, Borda Creme, Lisa e Pequena
20	Casca de cajueiro	CECA	CC3	Verde-Clara, Lisa e Pequena
21	Casca de cajueiro	CECA	CC4	Creme, Brilhante, Lisa e Pequena
22	Goiaba	FLEXEIRAS	GBF	Verde-Clara Mesclada com elevação Central e Lisa
23	Goiaba	CECA	GB1	Centro-Acinzentado, Borda Branca e Rugosa
24	Goiaba	CECA	GB2	Clara e Rugosa com Película
25	Jabuticaba	CECA	JAB	Verde-Escura e Lisa
26	Jambo	CECA	JM	Borda Mesclada, Centro Escuro e Liso
27	Jambo albino	CECA	JA	Rosa, Borda Cinza, Lisa e Média
28	Manga	CECA	MA1	Verde-Clara, Centro Verde, Médio e Liso
29	Manga	CECA	MA2	Branca e Rugosa
30	Pitanga	CECA	P1	Verde, Borda Clara e Lisa
31	Pitanga	CECA	P2	Verde-Clara, Pequena, Brilhante e Lisa

Nº	Origem	Localização	Códigos	Característica Morfológica
32	Casca com seiva de cajueiro	CECA	CSC1	Creme, Lisa e Média
33	Casca com seiva de cajueiro	CECA	CSC2	Branca, Lisa e Pequena
34	Seiva de mangueira	CECA	SM	Cinza-Escura, Borda Clara e Lisa
35	Tamarindo	CECA	TA1	Borda Cinza e Fosca
36	Tamarindo	CECA	TA2	Branca, Lisa e Média
37	Tamarindo	CECA	TA3	Verde-Escura, Lisa e Pequena
38	Tamarindo	CECA	TA4	Lisa e Média
39	Tamarindo	CECA	TA5	Branca e Lisa
40	Tamarindo	CECA	TA6	Verde-Acinzentada, Borda Clara e Lisa
41	Seiva de tamarindo	CECA	STA	Creme, Lisa e Grande

Fonte: Dados da pesquisa

3.2 Isolados de *C. truncatum*

O isolado de *C. truncatum*, denominado ICT12 (LIMA, 2013), foi obtido no Laboratório de Fitopatologia Molecular – CECA/UFAL, isolado este previamente caracterizado por estudos morfológicos e moleculares (SOARES *et al.*, 2024). O patógeno foi cultivado no meio BDA (Batata, 200 g/L; dextrose 20 g/L; e ágar, 20 g), incubado a 27 ± 2 °C por sete dias em estufa incubadora para demanda biológica de oxigênio (B.O.D).

3.3 Ensaio *in vitro* de antagonismo direto entre leveduras e *C. truncatum*

A seleção inicial da capacidade antagonica das leveduras foi realizada segundo a metodologia descrita por HASSAN e colaboradores (2021), com modificações (as estrias tinha 3,0 cm de comprimento). Cada linhagem de levedura foi cultivada com *C. truncatum* em meio BDA, suplementado com extrato de levedura a 1% (ZHIMO; BHUTIA; SAHA, 2016). A levedura foi semeada no meio fazendo uma estria retilínea da massa de levedura obtido de um cultivo de sete dias. A estria tinha aproximadamente 3,0 cm e foi feita à 1,5 cm da borda da placa de *Petri*. Após 48 horas, procedeu-se à inoculação de um disco micelial de 6 mm no centro da placa. As placas foram incubadas em câmaras de BOD à 28 °C, durante sete dias. Todos os tratamentos *in vitro* foram realizados em triplicata. A avaliação do antagonismo foi realizada a partir do índice de inibição percentual do crescimento radial (PICR) com base na seguinte fórmula (HASSAN *et al.*, 2021; SARIAH, 1994):

$$PICR = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

Onde, R1 = Crescimento radial de *C. truncatum* na placa controle; e R2 = Crescimento radial de *C. truncatum* cultivados com levedura potencialmente antagônica.

Somente isolados com PICR > 40% foram selecionados.

3.4 Ensaio *in vitro* com leveduras antagônicas selecionadas de acordo com PICR

O antagonismo das leveduras foi avaliado no teste de confronto direto considerando uma maior distância entre as leveduras e *C. truncatum*, permitindo avaliar o efeito antagônico em um maior intervalo de tempo. Cada linhagem de levedura foi cultivada com *C. truncatum* em meio BDA, suplementado com extrato de levedura a 1% (ZHIMO; BHUTIA; SAHA, 2016). No confronto, um estriamento retilíneo da massa de levedura cultivada por 7 dias foi feito a 1,5 cm da borda da placa de *Petri*. Após 48 horas, procedeu-se à inoculação de um disco micelial de 6 mm, com sete dias de cultivo, sendo posicionado a 1,5 cm da borda oposta da estria das leveduras. O confronto foi incubado em câmaras de BOD à 28 °C, durante 18 dias. A avaliação do antagonismo foi realizada a partir do índice de inibição percentual do crescimento radial (PICR).

3.5 Efeito de sobrenadantes livres de células das leveduras selecionadas no crescimento do *C. truncatum*

O efeito inibitório do sobrenadante dos cultivos das linhagens de leveduras selecionadas foi realizado pela técnica de difusão e incorporação na placa. Uma suspensão das linhagens de leveduras, cultivadas por 24 horas em meio YEPD (10 µL), foi transferida para tubos Falcon contendo 30 mL de caldo YEPD (extrato de levedura, 10 g/L; peptona, 20 g/L; glicose, 20 g/L). Os cultivos foram mantidos em estufa incubadora por 3 dias a 28 °C. Após a incubação, as culturas foram centrifugadas a 4.000 rpm durante 5 minutos. O sobrenadante foi descartado, e a massa decantada foi pesada e utilizada para padronizar a concentração do inóculo para produção do sobrenadante. Uma concentração equivalente a 2,0 g/L foi preparada com cada uma das linhagens, adicionando-se 0,2 g da massa de leveduras a 100 mL de caldo YEPD. Os frascos Erlenmeyer contendo as amostras foram agitados utilizando um Shaker por 72 horas à temperatura ambiente (25 a 28 °C). Em seguida, as suspensões foram centrifugadas a 4.000 rpm

por 5 minutos, e os sobrenadantes obtidos foram esterilizados por filtração utilizando membranas de microfiltração com porosidade de 0,22 µm.

O efeito inibitório sobre *Colletotrichum truncatum* foi avaliado utilizando 20 mL do sobrenadante de cada isolado incorporado em 80 mL de meio YEPD (extrato de levedura, 8 g/L; peptona, 16 g/L; glicose, 16 g/L; e ágar, 20 g/L). Como controle, foi utilizado meio YEPD, sem adição de sobrenadante, com um disco micelial de 6 mm posicionado no centro da placa de *Petri*. As placas foram incubadas a 28 °C por 7 dias, e o crescimento micelial foi medido ao final desse período. A atividade inibitória do sobrenadante foi realizada a partir do índice de inibição percentual do crescimento radial (PICR).

3.6 Potencial de Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) de Linhagens de Leveduras Seleccionadas na Inibição do Crescimento de *Colletotrichum truncatum*

O potencial de compostos orgânicos voláteis (COVs) liberados pelas leveduras em inibir o crescimento de *C. truncatum* em co-cultivos foi avaliado pela metodologia de placas sobrepostas (DI FRANCESCO *et al.*, 2015), utilizando duas formas de inoculação da levedura na placa contendo meio BDA. Na primeira metodologia, a levedura foi inoculada no centro da placa (estria de 3,0 de diâmetro). Na segunda, espalhou-se uma alíquota (30 µL) de suspensão de células de leveduras (1×10^8 células unidades formadoras de colônia (UFC/mL), com o auxílio da alça de Drigalski, por toda a superfície do meio de cultura. Em ambas as metodologias as placas foram incubadas a 25 °C por 48 h. Um disco micelial de 6 mm foi introduzido numa segunda placa contendo meio BDA. Os dois fundos foram então sobrepostos e selados com filme plástico. As placas foram incubadas a 25 °C por 7 dias. O controle consistia em uma placa contendo meio BDA inoculada exclusivamente com patógeno fúngico sobreposto com outra placa contendo apenas o meio de cultivo. Os dois experimentos foram feitos separadamente. A porcentagem de inibição do crescimento do patógeno fúngico foi realizada a partir do índice de inibição percentual do crescimento radial (PICR).

3.7 Potencial dos voláteis das linhagens de leveduras seleccionadas em inibir a germinação conidial de *C. truncatum*

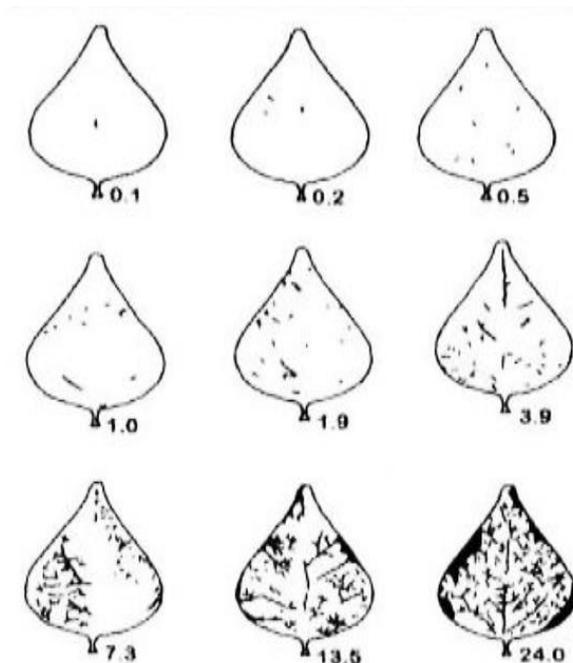
O ensaio de germinação de conídios foi conduzido para avaliar a atividade antagônica de isolados de levedura contra *C. truncatum* em placas sobrepostas (GOMES *et al.*, 2022). Um

volume de 30 μL da suspensão de leveduras (1×10^8 células UFC/mL) foi inoculada em meio BDA e 30 μL de suspensão de 1×10^6 conídios/mL de *C. truncatum* foi espalhada em meio ágar-água, sendo essas inoculações realizadas em cada um dos fundos da placa de *Petri*. No tratamento controle, a suspensão de esporos de levedura foi substituída por 30 μL de água destilada estéril. A germinação dos conídios foi examinada observando-se 100 conídios de cada tratamento sob um microscópio óptico 48 h após a inoculação com os conídios. Um conídio foi considerado germinado quando o comprimento do tubo germinativo era igual ou maior que o comprimento do esporo. Os resultados foram expressos em termos da porcentagem de esporos germinados.

3.8 Eficácia do biocontrole dos antagonistas no manejo de infecções pelo fitopatógeno em casa de vegetação.

A eficácia de biocontrole das leveduras selecionadas foram avaliados em caráter protetivo. As leveduras foram aplicadas nas plantas 48 h antes da inoculação do patógeno. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 8 tratamentos (TAM (7).B.C, AM (1)A, P1 (b), SC (1), CANA (a), JAB (2), CAMB (2), TAMSS (7)) e 4 repetições, tendo cada parcela experimental representada por 2 folhas compostas trifolioladas de uma mesma planta. A variedade OVIC utilizada no ensaio era suscetível ao *C. truncatum*. As plantas foram cultivadas em vasos plásticos contendo 4 kg de terra vegetal adubada. Inicialmente, foram semeadas três sementes em cada vaso e, após 15 dias, foi realizado o desbaste, deixando uma planta por vaso, garantindo assim a uniformidade entre as plantas. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por mais 20 dias. No 35º dia após o plantio realizou-se o tratamento protetivo nas folhas. Uma suspensão de levedura, na concentração de 10^6 leveduras mL^{-1} , foi aspergida até que a superfície das folhas ficasse coberta por pequenas gotículas. O inóculo do *C. truncatum* foi preparado a partir de colônias do fungo cultivado em meio BDA por 7 dias. Após 72 horas, foi realizada a inoculação com os esporos do *C. truncatum* na concentração de 10^6 esporos mL^{-1} nas duas folhas compostas logo acima das folhas cotiledonares, até que as superfícies estivessem cobertas por gotículas. As folhas inoculadas foram mantidas em câmara úmida por 3 dias. A avaliação da porcentagem de área total em folha com sintomas foi realizada no 3º e 5º dia após a inoculação. A quantificação da severidade das lesões foi realizada de acordo com a escala diagramática desenvolvida para o feijão-comum (Figura 1; GODOY *et al.*, 1997).

Figura 1 - Escala diagramática de severidade (porcentagem de área foliar afetada) da antracnose causada por *Colletotrichum lindemuthianum* do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) (GODOY *et al.*, 1997).



Fonte: GODOY e colaboradores (1997).

3.9 Análise estatística

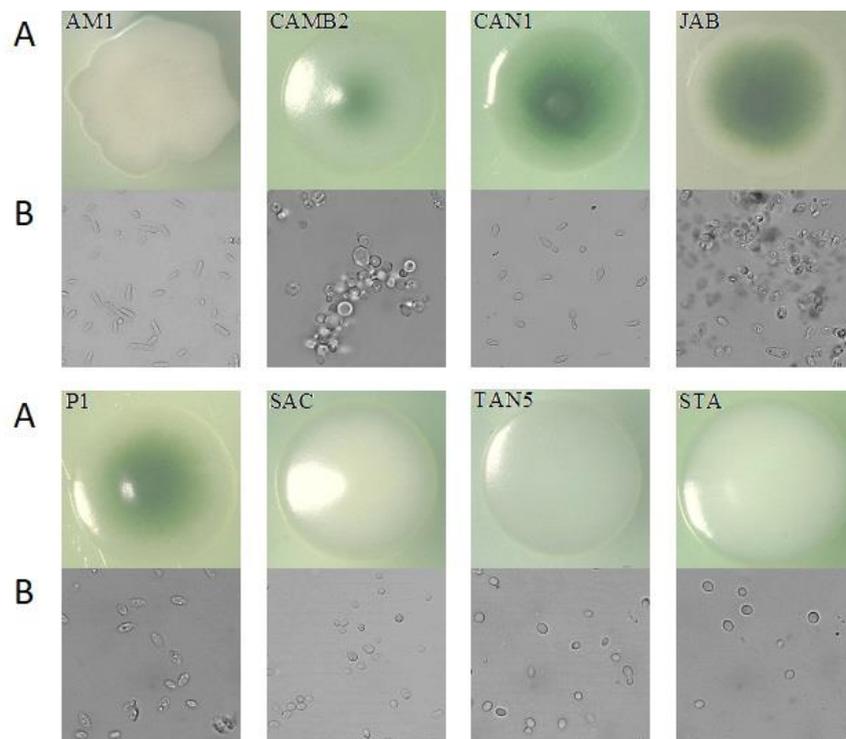
Os dados sobre taxa de inibição e notas das avaliações de sintomas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 %. As análises foram realizadas utilizando o programa SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2014).

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação da pureza de leveduras dos isolados da coleção

Um total de 41 cepas de leveduras foram avaliadas. A pureza das leveduras no estoque foi confirmada realizando o isolamento por esgotamento pelo método de estrias. A pureza do estoque foi confirmada pela presença de colônias isoladas e com características morfológicas distintas em meio nutriente WL (Figura 2). As características morfológicas observadas foram a coloração da colônia, formato e textura da borda de crescimento da colônia. Todos os isolados puros foram novamente preservados em tubo inclinados. Um cultivo de trabalho foi mantido como fonte de inóculo para a avaliação das atividades antagônicas contra o *C. truncatum*. O cultivo de trabalho era renovado a cada 7 dias.

Figura 2 - Morfologia das colônias das linhagens selecionadas cultivadas em ágar nutriente WL (A) e morfologia da célula observada em microscópio ótica (B; 400 vezes).

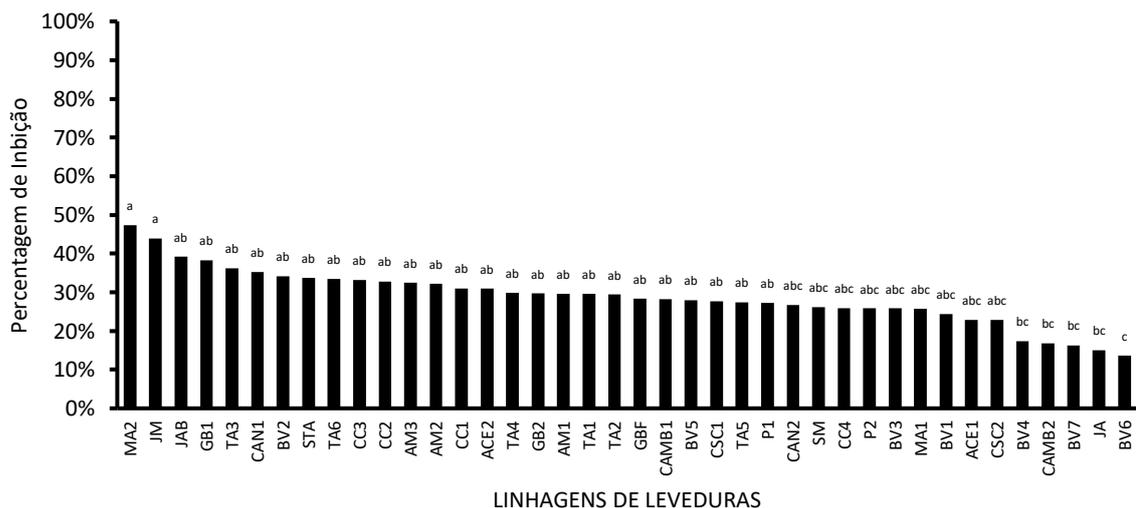


Fonte: Dados da pesquisa

4.2 Seleção *in vitro* de levedura antagônicas ao *C. truncatum*

A seleção das 40 linhagens foi realizada através do co-cultivo com *C. truncatum*, enquanto a linhagem SAC (*S. cerevisiae*) foi utilizada como controle devido a capacidade competitiva conhecida (KHUNNAMWONG *et al.*, 2020). A percentagem de inibição foi determinada tendo como referência o crescimento do *C. truncatum* na ausência na levedura. A percentagem de inibição do crescimento radial de *C. truncatum* na presença das leveduras variou de 47 a 10% (Figura 3). As linhagens com maiores valores de inibição foram MA2 e JM com taxas de 47 e 45% de inibição, respectivamente. A leveduras com taxas inferiores a 17% foram BV4, CAMB2, BV7, JA e BV6 que diferenciaram das leveduras superiores. A demais leveduras apresentam nos grupos intermediárias que não diferenciam estatisticamente das leveduras superiores ou inferiores.

Figura 3 - Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com diferentes isolados de leveduras, em ensaio realizado *in vitro*. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

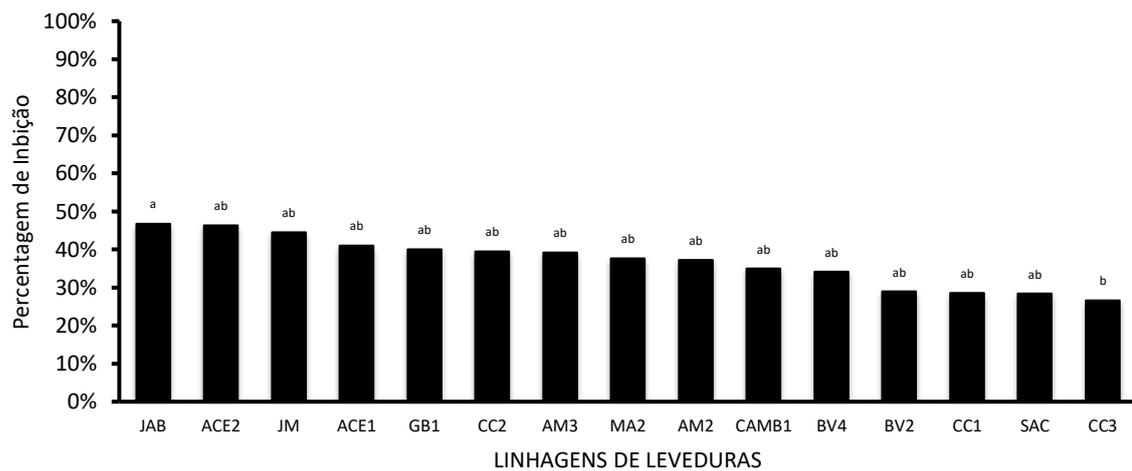


Fonte: Dados da pesquisa

O ensaio foi repetido para confirmar os resultados observados no primeiro ensaio das leveduras que obtiveram os melhores resultados. No ensaio foram avaliadas 29 leveduras. A confirmação dos resultados foi obtida com a realização de dois experimentos. No primeiro experimento foram avaliadas 15 linhagens de leveduras (Figura 4). No experimento, as leveduras apresentaram uma taxa de inibição variando de 47 a 27%. A levedura JAB, foi a

linhagem com maior taxa de inibição de crescimento do patógeno acima de 47%. A levedura CC3 apresentou menor taxa, diferenciando estatisticamente da JAB. As demais leveduras apresentam nos grupos intermediários, que não diferenciam estatisticamente das leveduras superiores ou inferiores.

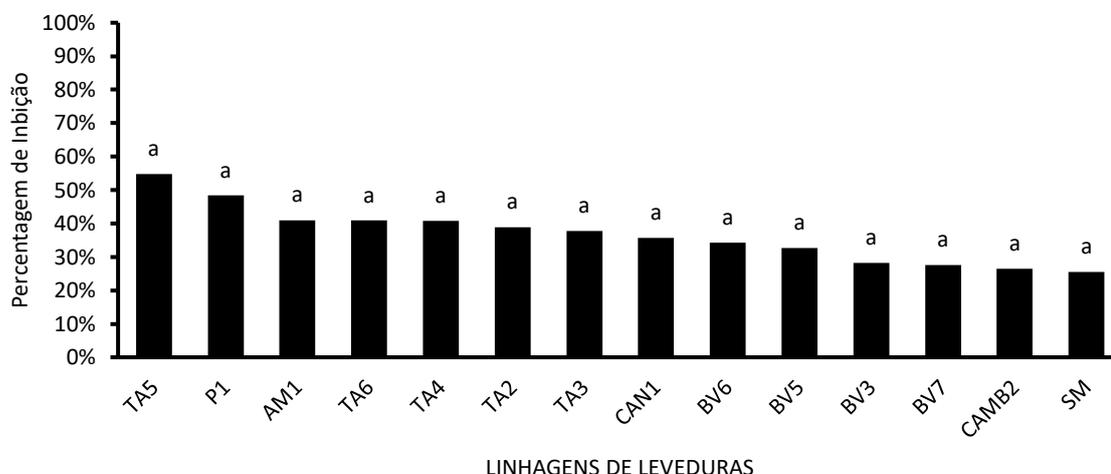
Figura 4 - Porcentagem de inibição do crescimento radial (PICR) de *C. truncatum* co-cultivados com 15 linhagens de leveduras. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



Fonte: Dados da pesquisa

No segundo ensaio foram avaliadas 14 leveduras. A taxa de inibição variou de 55% a 26%. As leveduras não diferenciaram estatisticamente. A levedura com menores taxas de inibição foram BV7, CAMB2 e SM (Figura 5).

Figura 5 - Porcentagem de inibição do crescimento radial (PICR) de *C. truncatum* co-cultivados com 14 linhagens de leveduras. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



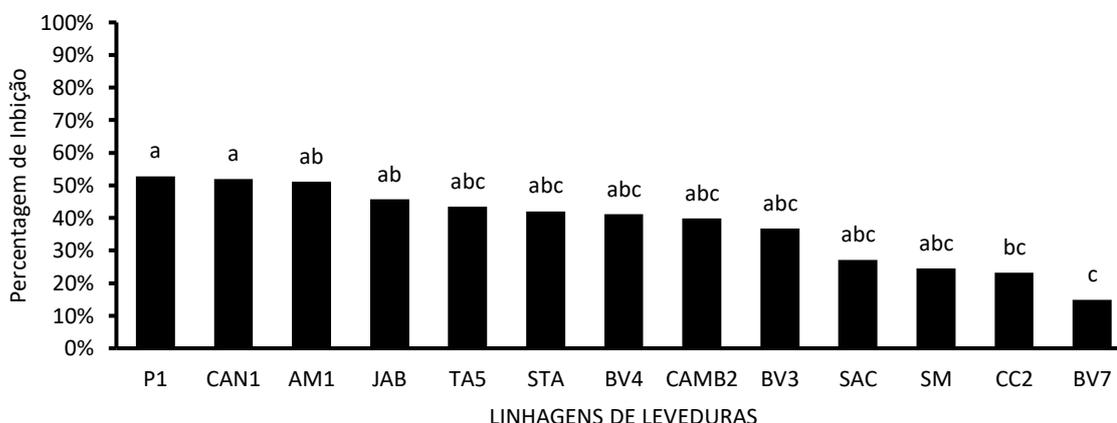
Fonte: Dados da pesquisa

No final da seleção preliminar, considerando a avaliação dos dois ensaios foram selecionadas 13 levedura para avaliação mais detalhadas dos mecanismos de inibição.

4.3 Avaliação *in vitro* da atividade antagônicas das leveduras selecionadas contra o *C. truncatum*

O teste foi realizado utilizando uma metodologia de confronto direto que mantinha as linhagens e leveduras em uma maior distância permitindo avaliar o efeito antagônico em um maior intervalo de tempo. As leveduras foram inoculadas em uma extremidade da placa e o fungo do lado oposto, mantendo uma distância de 7 cm. No ensaio, as 13 cepas exibiram diferentes taxas de inibição do crescimento do *C. truncatum* (PICR), após dezoito dias de co-cultivo (Figura 6). As linhagens P1, CAN1 demonstraram efeitos inibitórios superiores a 50%, diferenciando estatisticamente das CC2 e BV7. As duas linhagens apresentaram os menores valores. As demais linhagens de leveduras foram reunidas em grupos intermediárias que não diferenciam estatisticamente das leveduras superiores ou inferiores.

Figura 6 - Valores de porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com os isolados selecionados. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de probabilidade.



Fonte: Dados da pesquisa

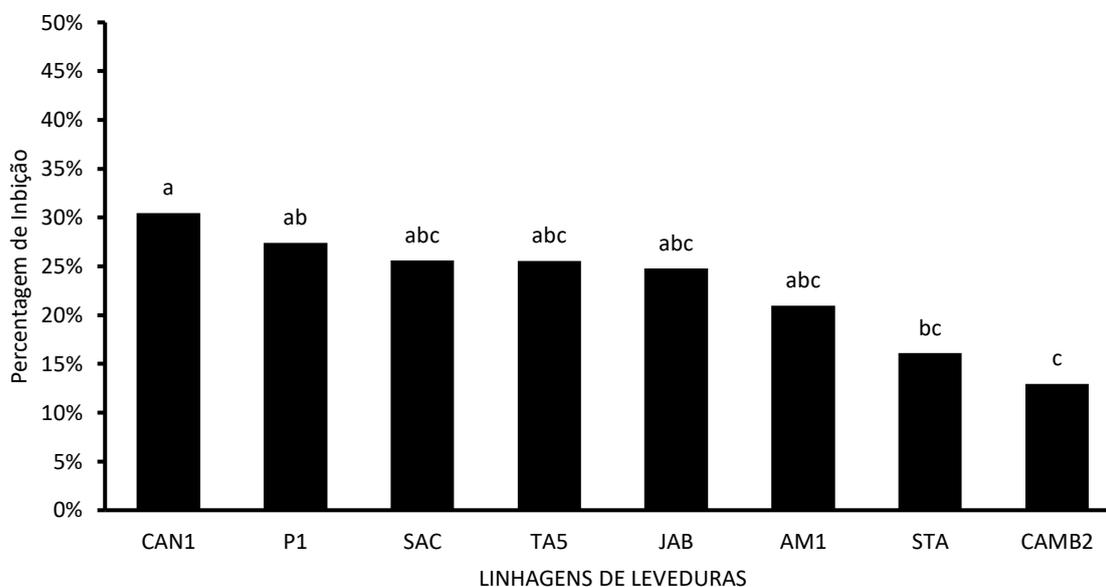
No ensaio foram selecionadas sete linhagens para avaliação detalhada dos mecanismos de inibição do crescimento das leveduras. As leveduras selecionadas foram P1, CAN1, AM1, JAB, TA5, STA, e CAMB2, uma vez que apresentava características distintas em relação as demais, inclusive da BV4, a qual assemelhavam-se no nível de significância.

4.4 Determinação *in vitro* dos Mecanismos Antagônicos das leveduras com maior taxa de inibição Antagonistas

4.4.1 Efeito de sobrenadantes de cultivo no crescimento do *C. truncatum*

A avaliação da capacidade das sete linhagens de leveduras secretarem no meio de cultivo substância capazes de inibir o crescimento de *C. truncatum* foi verificado incorporando 20% do sobrenadante livres de células ao meio de cultivo. A incorporação do sobrenadante inibiu o crescimento do *C. truncatum*. A taxa de inibição variou de 30% a 13% após 10 dias de cultivo. O sobrenadante do cultivo da linhagem CAN1 inibiu em 30% o crescimento de *C. truncatum* e diferenciou da linhagem com menor taxa de inibição. As linhagens P1, SAC, TA5, JAB, AM1, STA e CAMB2 seguiram com percentuais de inibição de 27%, 26%, 26%, 25%, 21%, 16% e 13%, respectivamente (Figura 7). No entanto, os valores não diferenciam estatisticamente dos valores superiores ou inferiores.

Figura 7 - Valores da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) com sobrenadante incorporado no meio de cultura YEPD a 20%. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de probabilidade.



Fonte: Dados da pesquisa

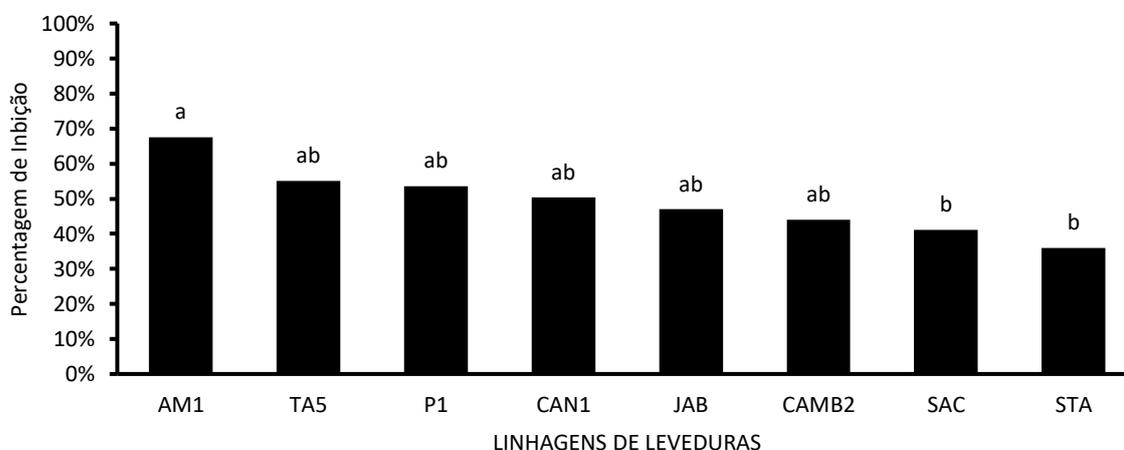
4.4.2 Efeitos dos Compostos Orgânicos Voláteis Antifúngicos (COVs)

4.4.2.1 Efeitos dos COVs no crescimento micelial de *C. truncatum*

A inibição do crescimento do micelial e a germinação de esporos por compostos voláteis produzidos pelas sete linhagens foi conduzido com placas sobrepostas tendo como inóculo uma estria da linhagem no meio da placa. O segundo método foi semear na placa uma concentração definida de leveduras por toda a placa. Uma linhagem de *S. cerevisiae* (SAC) foi utilizado como referência.

No ensaio com estria, todas as linhagens produziram compostos orgânicos voláteis que inibiram o crescimento do fungo. A taxa de inibição variou de 68% a 36% (Figura 8). A linhagem AM1 apresentou o maior valor, quanto a *S. cerevisiae* e o STA os menores valores, diferenciando estatisticamente. A linhagens TA5, P1 e CAN1 apresentaram taxas de inibição de 55%, 54% e 50%, respectivamente. Os valores não diferenciaram das linhagens com maior e menor taxa de inibição.

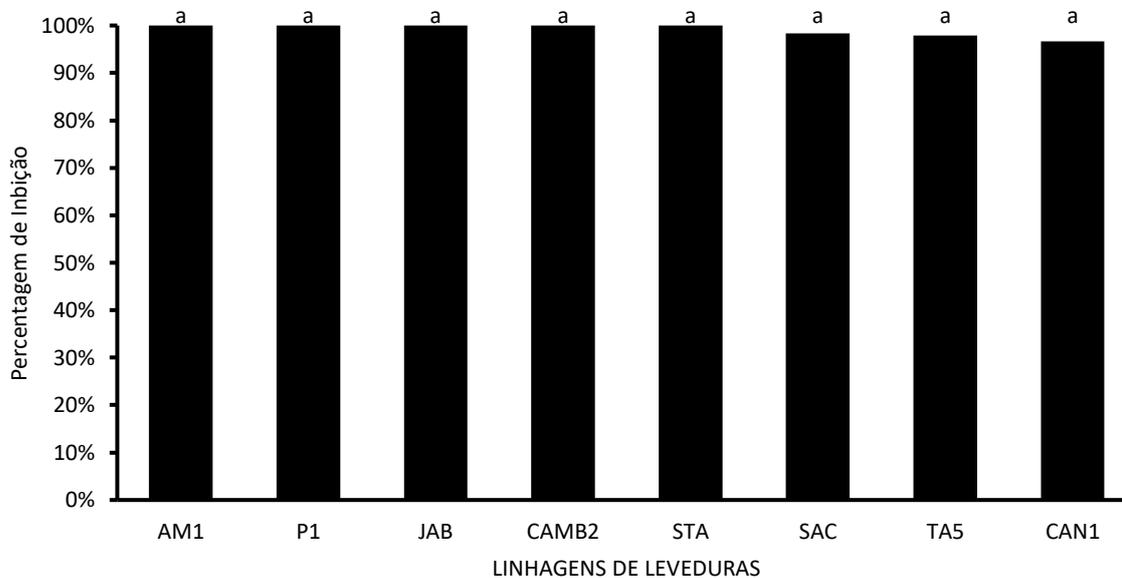
Figura 8 - Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com as cepas de leveduras sobre o efeito dos COVs com o método de estria no meio da placa. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de probabilidade.



Fonte: Dados da pesquisa

No ensaio com semeadura, uniformizando a população de leveduras na superfície da placa (1×10^8 de células UFC/mL), as linhagens produziram compostos orgânicos voláteis que inibiram o crescimento do fungo (Figura 14). A taxa de inibição variou de 100 a 97% (Figura 9). Considerando a variação das taxas entre os dois métodos foi avaliada a possibilidade do efeito da concentração no inóculo na inibição do crescimento de *C. truncatum*.

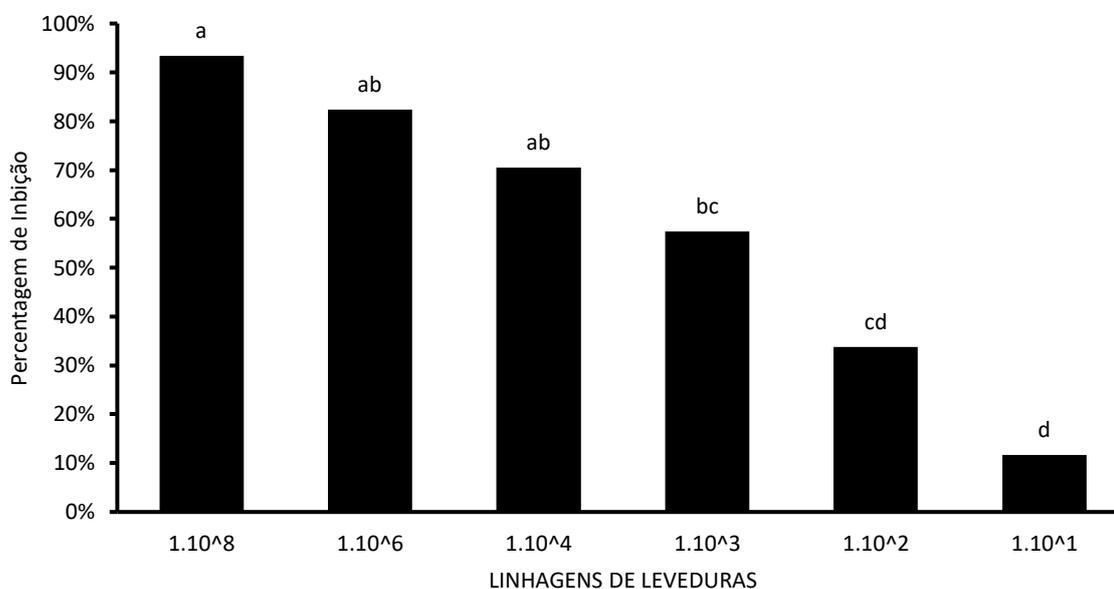
Figura 9 - Valor da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com as cepas de leveduras efeitos dos COVs com o método de espalhamento de 30 µl de suspensão numa concentração de 1×10^8 de células UFC/mL. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de probabilidade.



Fonte: Dados da pesquisa

No ensaio para determinar a concentração mínima de leveduras com efeito inibitório do fungo, foram selecionadas duas linhagens: a SAC, considerada o controle, e a AM1, que se destacou em relação aos demais no ensaio com estria. O efeito inibitório dos voláteis produzidos pelas leveduras reduziu à medida que a concentração de leveduras diminuía (Figura 10). A redução na taxa de inibição para *S. cerevisiae* foi contínua. As taxas iniciaram com 93% e finalizaram com 13% para menor número de leveduras na placa. A taxa de inibição do crescimento do fungo utilizando uma concentração de leveduras a 10^3 (UFC/mL) diferenciou da maior concentração de leveduras, 10^8 , e menor concentração, 10^1 .

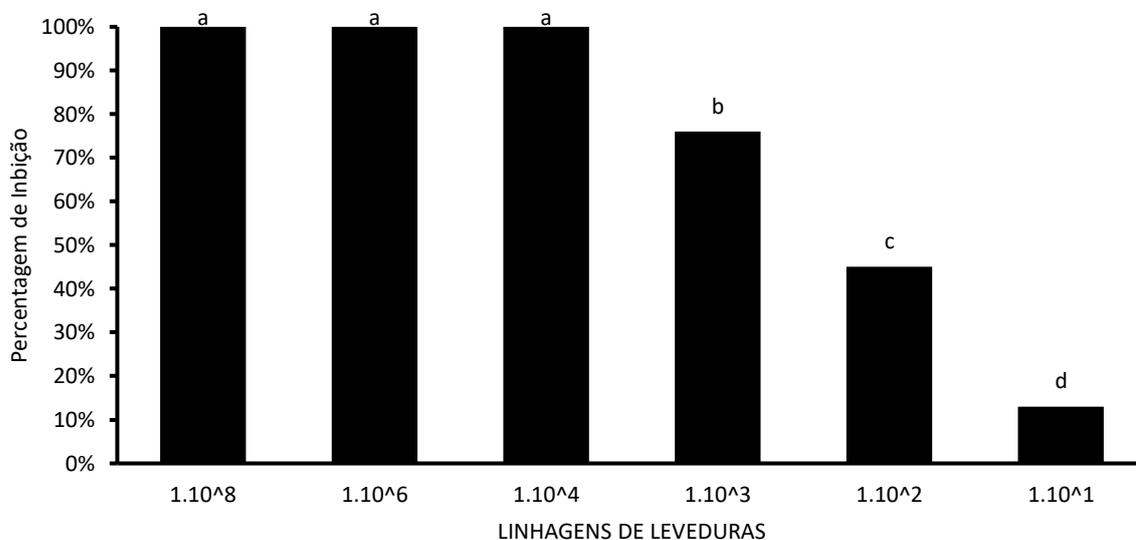
Figura 10 - Valor da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com o isolado SAC nas concentrações 1.10^8 , 1.10^7 , 1.10^6 , 1.10^5 , 1.10^4 , 1.10^3 e 1.10^1 . As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de probabilidade.



Fonte: Dados da pesquisa

A redução na taxa de inibição para AM1 não foi contínua (Figura 11). A taxas iniciaram com 100% mantendo-se até a concentração de 10^3 leveduras por mL, quando a taxa de inibição foi de 76%. O valor foi próximo ao teste com estria. A menor taxa de inibição foi 13% e na menor concentração.

Figura 11 - Valor da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICR) de *C. truncatum* sob co-cultivo com o isolado AM1 nas concentrações 1.10^8 , 1.10^7 , 1.10^6 , 1.10^5 , 1.10^4 , 1.10^3 e 1.10^1 . As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

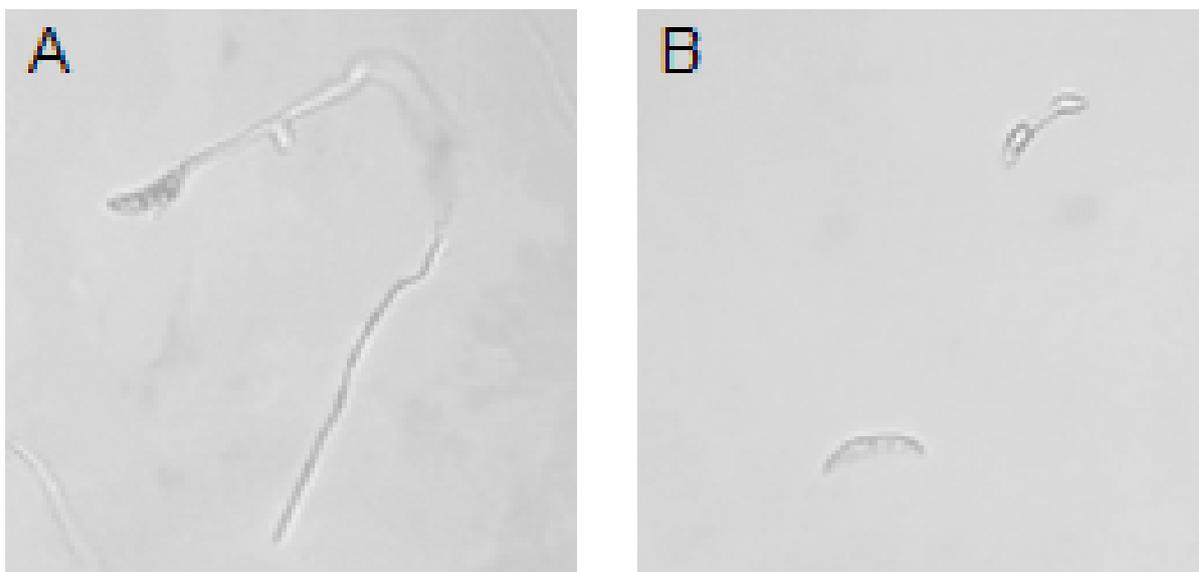


Fonte: Dados da pesquisa

4.4.2.1 Efeitos dos COVs na germinação de esporos de *C. truncatum*

As sete linhagens de leveduras inibiram a germinação dos esporos. Considerou-se o esporo germinado quando o tubo germinativo apresentasse comprimento igual ou superior ao do próprio conídio (Figura 12). As sete linhagens reduziram as porcentagens de germinação de esporos de *C. truncatum* em comparação ao controle (Figura 13).

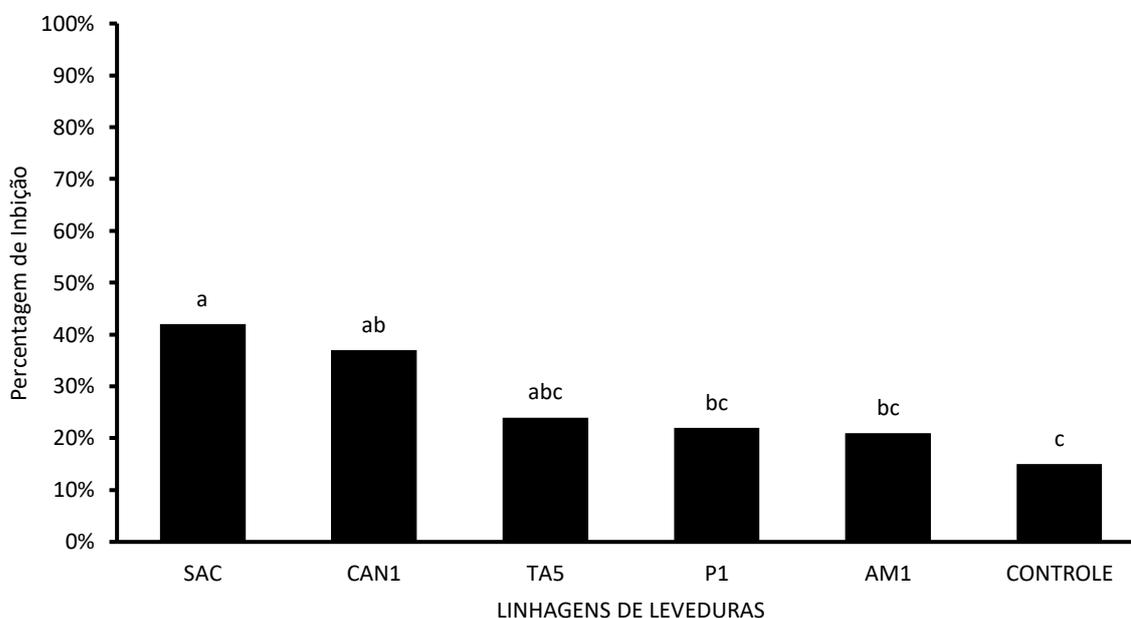
Figura 12 - Fotomicrografia de esporos do fungo *Colletotrichum truncatum*. A: Germinado; B: Não germinado.



Fonte: Dados da pesquisa

As taxas de inibição da germinação do esporo variaram entre 32% e 7%. A cepa de *S. cerevisiae* (SAC) apresentou a maior taxa de inibição, com um percentual de 32%. A cepa CAN1 apresentou o segundo melhor desempenho, 37%. As cepas TA5, P1 e AM1 apresentaram taxas de inibição similares.

Figura 13 - Valores correspondentes à porcentagem de inibição da germinação conidial de *C. truncatum* sob co-cultivo com cepas de leveduras a 1×10^8 células UFC/mL e efeitos dos compostos orgânicos voláteis (COVs). As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de probabilidade.

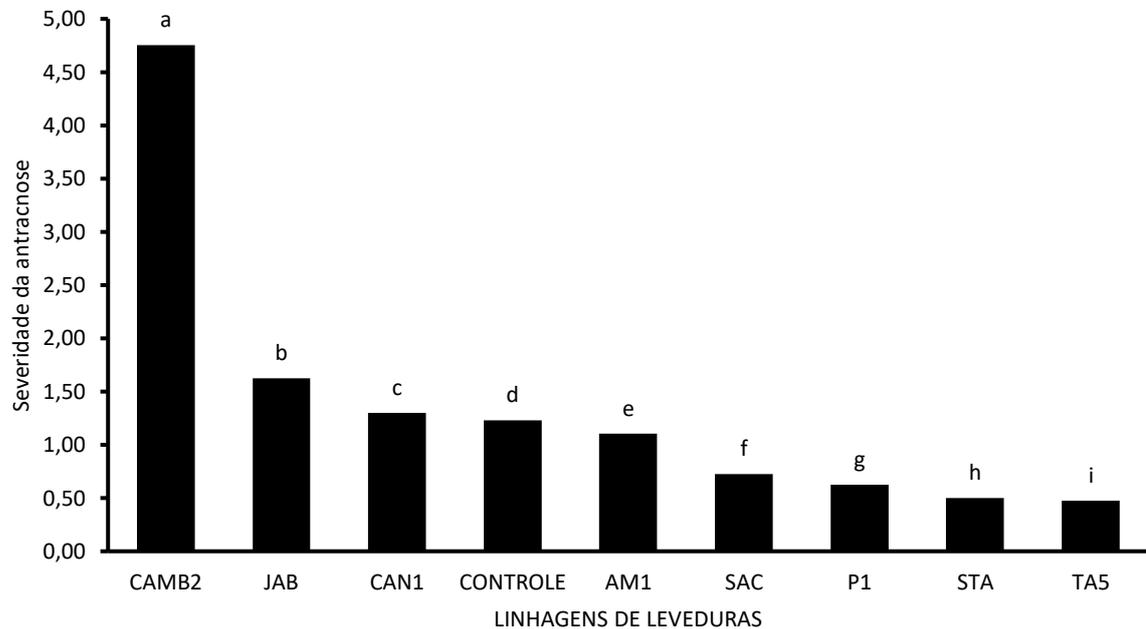


Fonte: Dados da pesquisa

4.5 Efeito protetivo das sete linhagens de leveduras selecionadas contra *C. truncatum*

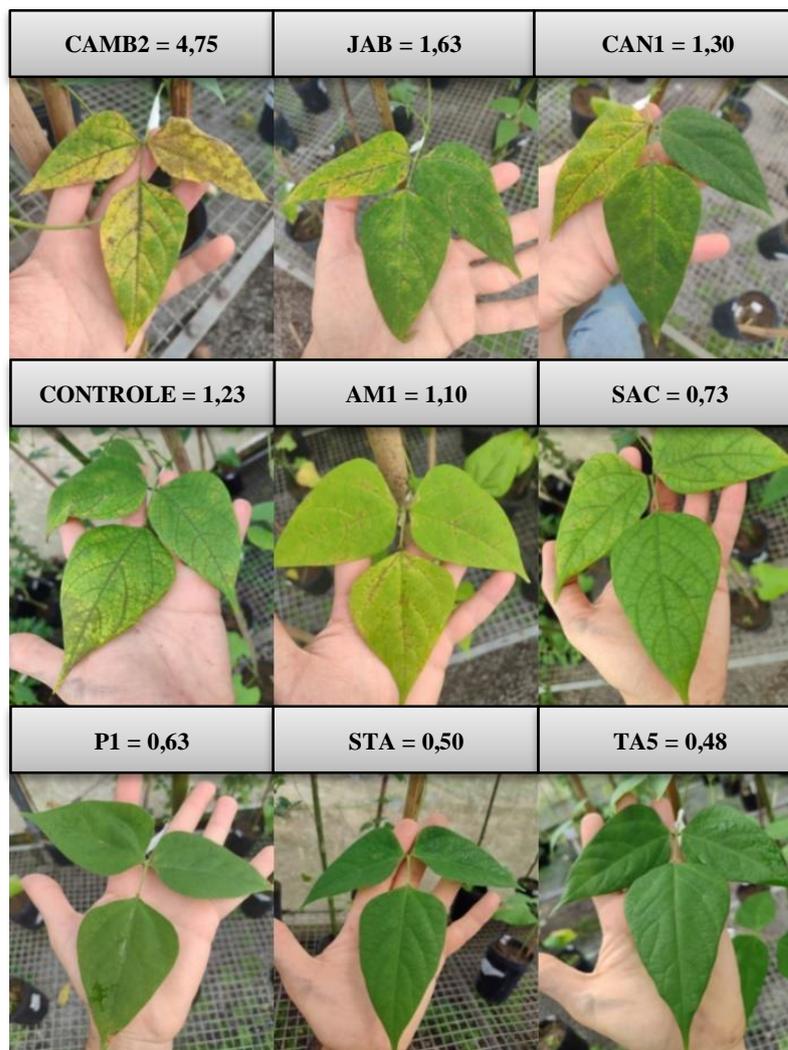
A eficácia do antagonismo contra *C. truncatum* observado em ensaios laboratoriais foi verificada no controle da antracnose em condições de casa de vegetação. No ensaio foi avaliado o efeito protetivo da aplicação das linhagens das leveduras 48 h antes da inoculação do patógeno. Considerando a escala de notas para doenças, todas as leveduras apresentaram diferenças em relação a testemunha. As cepas SAC (*S. cerevisiae*), P1, STA e TA5 reduziram efetivamente a severidade da antracnose nas folhas de feijão-fava. Em contrapartida, as linhagens CAMB2, JAB, CAN1 aumentaram a severidade da doença (Figura 14 e 15).

Figura 14 - Severidade da Antracnose em folhas de *P. lunatus* foi avaliada com base na escala de notas de Godoy, após o uso de leveduras antagonistas ao *C. truncatum* como agentes protetores em condições de casa de vegetação. A severidade da doença foi avaliada 7 dias após a inoculação do patógeno. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



Fonte: Dados da pesquisa

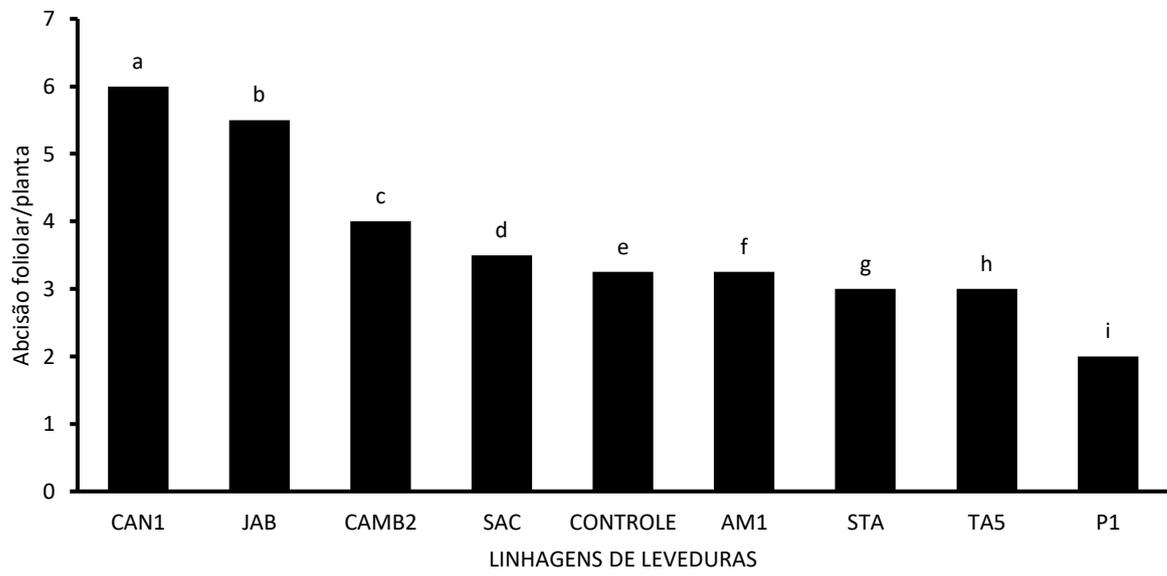
Figura 15 - Folhas de *Phaseolus lunatus* tratadas com as leveduras e com sintomas de antracnose com base na escala de notas de Godoy.



Fonte: Dados da pesquisa

Durante a avaliação da evolução dos sintomas nas folhas, a abscisão foliar foi contabilizada considerando os seis folíolos inoculados da planta. A quantidade de folíolos que caíram foi registrada até o décimo dia após a inoculação. Todas as leveduras apresentaram diferenças significativas, porém a cepa P1 reduziu a abscisão foliar. Em contrapartida, as linhagens CAN1, JAB e CAMB2 aumentaram a abscisão foliar (Figura 16).

Figura 16 - A abscisão foliar por planta, causada pela antracnose em plantas de *P. lunatus*, foi analisada após o uso de leveduras antagonistas ao *C. truncatum* como agentes protetores em condições de casa de vegetação. A quantificação foi realizada dez dias após a inoculação. As letras indicam diferenças significativas entre as médias pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de probabilidade.



Fonte: Dados da pesquisa

5 DISCUSSÃO

A diversidade das leveduras presentes na superfície de frutos caído no chão em início de processo de fermentação em fase inicial de colonização microbiana revela potenciais agentes de controle para fitopatógenos foliares. Leveduras isoladas de diferentes frutos inibiram o crescimento micelial de *C. truncatum* e reduziram a manifestação dos sintomas de antracnose em *P. lunatus* causadas pelo fungo. No entanto, a eficácia das leveduras como agentes de biocontrole não deve ser considerada somente pelo efeito antagônico contra o patógeno. Algumas leveduras, que inibiram o crescimento do patógeno em condição *in vitro*, promoveram o aumento dos sintomas da doença. Indicando que a interação das leveduras com superfície foliar das plantas pode ativar vias de sinalização celular que podem favorecer o avanço dos sintomas da doença.

A maioria das leveduras testadas inibiram o crescimento fúngico, resultado que corrobora com outros estudos que também demonstram a eficácia do antagonismo de leveduras contra patógenos fúngicos. No biocontrole da Vassoura-de-Bruxa, causada por *Moniliophthora perniciosa* em cacau, as leveduras *Wickerhamomyces anomalus* e *Saccharomyces cerevisiae* mostraram potencial *in vitro*, aderindo e parasitando as hifas do fungo (FERRAZ et al., 2021). Para a antracnose em mamão, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, a levedura *Trichosporon asahii* reduziu a doença *in vitro* e *in vivo*, interferindo na colonização fúngica (HASSAN et al., 2021). No controle da podridão de plântulas de arroz, causada por *Curvularia lunata* e *Helminthosporium oryzae*, *Torulaspota indica* e *Wickerhamomyces anomalus* mostraram atividade antagonista *in vitro* e em estufa, com produção de compostos voláteis (LIMTONG; INTO; ATTARAT, 2020). Outras leveduras, como *Torulaspota indica* e *Papiliotrema aspenensis*, foram eficazes contra a podridão dos frutos, causada por *Lasiodiplodia theobromae*, e da antracnose, provocada por *Colletotrichum gloeosporioides*, em mangas pós-colheita (KONSUE; DETHOUP; LIMTONG, 2020). Para doenças em videiras e arroz, *Papiliotrema odontotermis* e *Metschnikowia pulcherrima* atuaram por depleção de ferro e produção de enzimas antagonistas (PRETSCHER et al., 2018).

Algumas linhagens de levedura (CAM2, JAB e CAN1) aumentaram a manifestação dos sintomas das plantas apesar de inibirem o crescimento do fungo em teste de confronto. Os isolado P1 foi considerado o mais efetivo na redução na redução da severidade da antracnose em folhas. Além disso, o isolado foi efetivo na diminuição da abscisão foliar por planta. Nos

testes de confronto, o isolado inibiu o crescimento micelial de *C. truncatum* tanto por confronto direto quanto pela produção de compostos orgânicos voláteis (COVs).

A falta de coerência entre a efetividade *in vitro* em relação aos ensaios *in vivo* é observado em outros patossistemas. Embora isolados de leveduras tenham inibido o crescimento micelial em ensaios *in vitro*, o mesmo sucesso não foi observado na redução da severidade da doença em mudas. Nenhuma das cepas de leveduras de *W. anomalus*, *M. pulcherrima* e *Candida lusitanae*, que apresentaram forte inibição do crescimento micelial *in vitro*, conseguiu conter o desenvolvimento da doença mancha-de-alternaria, causada por *A. alternata*, de forma eficiente em tomates-cereja (FERNANDEZ-SAN MILLAN et al., 2021). Algumas leveduras que demonstraram eficácia no controle do fungo *C. gloeosporioides* em condições *in vitro* não apresentaram o mesmo desempenho no combate à antracnose em testes *in vivo* realizados em frutos e folhas de mamão (DE CAPDEVILLE et al., 2007).

A principal explicação para essa discrepância entre os resultados *in vitro* e *in vivo* reside na maior complexidade dos sistemas naturais. No ambiente *in vivo*, diversos fatores influenciam o desempenho das leveduras, como as interações com outros microrganismos e com as plantas hospedeiras, além de condições ambientais adversas, incluindo pH, radiação UV-B e temperatura (SUI et al., 2015). O pH do meio afeta diretamente o crescimento das leveduras, com algumas espécies adaptando-se melhor a faixas específicas de acidez (LIU et al., 2012; WANG et al., 2014). A radiação UV-B compromete sua viabilidade no campo, embora a produção de substâncias protetoras possa melhorar a sobrevivência (LAHLALI; BROSTAU; JIJAKLI, 2011). Por fim, a temperatura é um fator determinante, já que o estresse térmico pode reduzir a viabilidade das leveduras, dependendo da espécie e de sua capacidade de adaptação a diferentes condições (MELIN et al., 2006; TEIXIDÓ et al., 1998).

Para potencializar o desempenho das leveduras como agentes de biocontrole em campo, técnicas que aumentem a tolerância aos estresses são fundamentais. A pré-adaptação, ou aclimatação, que consiste em expor leveduras, previamente à aplicação, a condições controladas de estresse, permite o desenvolvimento de defesas celulares, resultando no aumento da sobrevivência e eficácia em condições naturais. A manipulação fisiológica também contribui para o aumento de resistência, sendo realizada mediante ajustes no meio de cultivo, como a adição de sal ou redução de água, estimulando adaptações na parede celular e no metabolismo osmótico das leveduras. Outra abordagem é a inclusão de compostos antiestresse no meio de cultivo ou de armazenamento, como polióis e antioxidantes, que estabilizam as células em face

de condições ambientais adversas, especialmente em climas instáveis, otimizando sua eficiência no campo (SUI et al., 2015).

Embora algumas leveduras não sejam eficazes como agentes de controle biológico na interação com a planta e o patógeno, é possível identificar que certas leveduras possuem a capacidade de liberar compostos que podem funcionar como bioativos para controle de doenças. O bom desempenho dos isolados P1 e CAN1 na inibição do crescimento micelial no confronto direto em meio de cultura também foi observado com a utilização do sobrenadante, o que revelou que o efeito do confronto direto decorre de substâncias secretadas pelas leveduras. Os metabólitos extracelulares de *Candida oleophila*, por exemplo, inibiram o crescimento micelial do fungo *Penicillium digitatum*, responsável pela deterioração pós-colheita em frutas cítricas e de caroço (BAR-SHIMON et al., 2004), indicando uma consonância entre o confronto direto e a ação desses metabólitos.

Algumas leveduras produziram compostos orgânicos voláteis (COVs) que inibem o crescimento micelial. Os compostos em baixas concentrações mostraram altamente eficazes na inibição do crescimento micelial e na germinação de esporos. A *Saccharomyces cerevisiae* foi uma das mais eficientes na inibição da germinação de conídios de *C. truncatum* por meio da produção de COVs. A literatura aponta que a *S. cerevisiae* inibe a germinação de esporos de *C. gloeosporioides* (LIU et al., 2018). Contudo, apesar dos bons resultados *in vitro*, *Saccharomyces cerevisiae* não apresentou um efeito antagônico expressivo contra *C. truncatum* na casa de vegetação, sendo menos eficaz no controle da severidade da doença. Da mesma forma, o isolado CAN1, que obteve o segundo melhor resultado na inibição da germinação conidial, teve baixa eficácia na redução da severidade da doença em casa de vegetação e apresentou desempenho ainda pior no teste de abscisão foliar por planta, indicando que os testes de inibição de germinação dos conídios e o efeito dos COVs não estão necessariamente associados ao controle da antracnose em casa de vegetação. Apesar disso, nos testes *in vitro*, a variação na eficácia dos COVs entre diferentes isolados de leveduras sugere que não apenas a presença desses compostos é determinante, mas também sua concentração e composição química.

As leveduras *Candida intermedia* e *Candida maltosa* (NP9) produzem voláteis que inibem o crescimento de *Botrytis cinérea*, causador da podridão pós-colheita de morango, e a germinação de esporos de *Aspergillus brasiliensis*, causador de podridão dos frutos, como maçãs, laranjas e uvas (ANDO et al., 2012; HUANG et al., 2011). Da mesma forma, a levedura *Sporidiobolus pararoseus* foi eficaz em impedir a germinação de conídios e o crescimento

micelial de *B. cinerea* em morangos pós-colheita (HUANG *et al.*, 2012). Além disso, linhagens de *Aureobasidium pullulans* (L1 e L8) desempenharam um papel importante como agentes antagonicos nos testes *in vitro*, como nos testes *in vivo*, maçãs e laranjas inoculadas com conídios, contra cinco patógenos pós-colheita da fruta, como: *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum acutatum*, *Penicillium expansum*, *P. digitatum* e *P. italicum*, (DI FRANCESCO *et al.*, 2015).

A diversidade fenotípica das leveduras, especialmente aquelas isoladas de frutos abscisos em início da colonização por microrganismos, abre novas possibilidades para o desenvolvimento de agentes de biocontrole com um amplo espectro de atuação. No entanto, os resultados variáveis entre os ensaios *in vitro* e *in vivo* sugerem que a eficácia do biocontrole depende de vários fatores, e que o sucesso obtido em condições controladas nem sempre se repete em ambientes naturais. Isso ressalta a importância de um entendimento mais profundo dos mecanismos que regem as interações entre leveduras, patógenos e a microbiota presente na superfície das plantas, bem como das influências ambientais.

O estudo demonstra o potencial das leveduras como agentes de biocontrole para fungos causadores de doenças foliares, como por exemplo, o *C. truncatum*. No entanto, apontam para a necessidade de pesquisas futuras que explorem a diversidade genética das leveduras e busquem novas linhagens com maior potencial antifúngico. Ademais, é fundamental investigar estratégias para aumentar a eficácia do biocontrole em condições de campo, validando o uso dessas leveduras em diferentes cenários ambientais e aprimorando o entendimento das interações ecológicas envolvidas.

6 CONCLUSÃO

A diversidade das leveduras presentes na superfície de frutos maduros, em início de colonização por microrganismos, cotem leveduras potenciais para o uso como agente de biocontrole ou produção de substâncias bioativas com efeito fungicidas contra *C. truncatum*.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 2 fev. 2023.
- AHANSAL, L. et al. Biodiversity of yeasts isolated from the indigenous forest of Argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels) in Morocco. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 6, p. 777–782, jun. 2008.
- AL-AHMADI, M. S. Pesticides, Anthropogenic Activities, and the Health of Our Environment Safety. Em: **Pesticides - Use and Misuse and Their Impact in the Environment**. [s.l.] IntechOpen, 2019.
- ALMEIDA, J. M. DE; OLIVEIRA, F. C. DE. ACOMPANHAMENTO DA FERMENTAÇÃO NA PRODUÇÃO DE HIDROMEL COM. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 11, n. 1, 2021.
- ALVES, A. U. **Rendimento do feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) em função da adubação organomineral**. Dissertação de Mestrado—Areia-PB: Universidade Federal Da Paraíba, fev. 2006.
- AMBIKA et al. Unraveling Origin, History, Genetics, and Strategies for Accelerated Domestication and Diversification of Food Legumes. **Frontiers in Genetics**, v. 13, p. 932430, 22 jul. 2022.
- ANDO, H. et al. Antifungal activities of volatile substances generated by yeast isolated from Iranian commercial cheese. **Food Control**, v. 26, n. 2, p. 472–478, 1 ago. 2012.
- ANDUEZA-NOH, R. H. et al. Distribución Geográfica de los Parientes Silvestres del Acervo Genético Mesoamericano del Frijol Lima (*Phaseolus lunatus* L.) en México. **Polibotánica**, v. 0, n. 41, 29 jan. 2016.
- APALOWO, O. E. et al. Nutritional Characteristics, Health Impact, and Applications of Kefir. **Foods**, v. 13, n. 7, p. 1026, 27 mar. 2024.
- ARAUJO, A. S. F. DE. et al. Nodulation ability in different genotypes of *Phaseolus lunatus* by rhizobia from California agricultural soils. **Symbiosis**, v. 73, n. 1, p. 7–14, set. 2017.
- AREMU, M.; IBRAHIM, H.; EKANEM, B. Effect of Processing on in-vitro Protein Digestibility and Anti-nutritional Properties of Three Underutilized Legumes Grown in Nigeria. **British Biotechnology Journal**, v. 14, n. 1, p. 1–10, 10 jan. 2016.
- ARTTAWUTTIKUN, R. et al. SEED CATALOG. **ECHO Asia Seed Catalogue 2019-2020**, p. 55, 2019.
- ASHWINI, N.; SRIVIDYA, S. Potentiality of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent for management of anthracnose disease of chilli caused by *Colletotrichum gloeosporioides* OGC1. **3 Biotech**, v. 4, n. 2, p. 127–136, abr. 2014.

- ASSUNÇÃO, I. P. et al. Reaction of faba bean genotypes to *Rhizoctonia solani* and resistance stability. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 492–497, dez. 2011.
- AULD, B. Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. **Plant Pathology**, v. 51, n. 4, p. 518–518, 2002.
- AZEVEDO, J. N.; FRANCO, L. J. D.; ARAÚJO, R. O. DA C. Composição Química De Sete Variedades De Feijão-Fava. **Comunicado Técnico**, Embrapa Meio-Norte. p. 4, 2003.
- BAKER, B. P.; GREEN, T. A.; LOKER, A. J. Biological control and integrated pest management in organic and conventional systems. **Biological Control**, v. 140, p. 104095, jan. 2020.
- BARBOSA, G. J.; ARRIEL, N. H. C. FEIJÃO-FAVA E A AGRICULTURA FAMILIAR DE SERRARIA, PB. v. 35, n. 3, 2018.
- BARNETT, J. A. (JAMES A. **Yeasts: characteristics and identification**. [s.l.] Cambridge, U.K. ; New York, NY, USA : Cambridge University Press, 2000.
- BAR-SHIMON, M. et al. Characterization of extracellular lytic enzymes produced by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. **Current Genetics**, v. 45, n. 3, p. 140–148, 1 mar. 2004.
- BASTIDAS, R. J.; HEITMAN, J. Trimorphic stepping stones pave the way to fungal virulence. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 2, p. 351–352, 13 jan. 2009.
- BAUDOIN, J. P. Genetic Resources, Domestication and Evolution of Lima Bean, *Phaseolus lunatus*. Em: GEPTS, P. (Ed.). **Genetic Resources of Phaseolus Beans**. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture. Dordrecht: Springer Netherlands, 1988. v. 6p. 393–407.
- BAUTISTA-ROSALES, P. U. et al. Action mechanisms of the yeast *Meyerozyma caribbica* for the control of the phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides* in mangoes. **Biological Control**, v. 65, n. 3, p. 293–301, jun. 2013.
- BAUTISTA-ROSALES, P. U. et al. Biocontrol action mechanisms of *Cryptococcus laurentii* on *Colletotrichum gloeosporioides* of mango. **Crop Protection**, v. 65, p. 194–201, nov. 2014.
- BESSERA JR, J. E. A.; BARGUIL, B. M. Feijão-fava: doenças virais e fúngicas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 27, n. 1, p. 138–153, 2021.
- BILAL, M. et al. Bioprospecting *Kluyveromyces marxianus* as a Robust Host for Industrial Biotechnology. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 851768, 20 abr. 2022.
- BOEKHOUT, T. et al. Trends in yeast diversity discovery. **Fungal Diversity**, v. 114, n. 1, p. 491–537, maio 2022.
- BRAVO, A. et al. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 41, n. 7, p. 423–431, jul. 2011.
- BROUGHTON, W. J. et al. Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 55–128, maio 2003.

BUNSANGIAM, S. et al. Biosynthetic Pathway of Indole-3-Acetic Acid in Basidiomycetous Yeast *Rhodospordiobolus fluvialis*. **Mycobiology**, v. 47, n. 3, p. 292–300, 3 jul. 2019.

BZDUCHA-WRÓBEL, A. et al. How do the carbon and nitrogen sources affect the synthesis of β -(1,3/1,6)-glucan, its structure and the susceptibility of *Candida utilis* yeast cells to immunolabelling with β -(1,3)-glucan monoclonal antibodies? **Microbial Cell Factories**, v. 23, n. 1, p. 28, 19 jan. 2024.

CHAKRAVARTY, G.; KALITA, M. C. Biocontrol potential of *Pseudomonas fluorescens* against bacterial wilt of Brinjal and its possible plant growth promoting effects. 2012.

CHALUPOVÁ, J. et al. Identification of fungal microorganisms by MALDI-TOF mass spectrometry. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 1, p. 230–241, jan. 2014.

CHANCHAICHAOVIVAT, A.; RUENWONGSA, P.; PANIJAN, B. Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: Potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotrichum capsici*). **Biological Control**, v. 42, n. 3, p. 326–335, set. 2007.

CHATTOPADHYAY, C.; KOLTE, S.; WALIYAR, F. **Diseases of Edible Oilseed Crops**. [s.l: s.n.].

CHEL-GUERRERO, L. et al. Functional Properties of Proteins from Lima Bean (*Phaseolus lunatus L.*) Seeds. **Food Science and Technology International**, v. 17, n. 2, p. 119–126, abr. 2011.

CHEL-GUERRERO, L. et al. Lima Bean (*Phaseolus lunatus L.*) Protein Hydrolysates with ACE-I Inhibitory Activity. **Food and Nutrition Sciences**, v. 03, n. 04, p. 511–521, 2012.

CHEN, L.; LIU, Y. The Function of Root Exudates in the Root Colonization by Beneficial Soil Rhizobacteria. **Biology**, v. 13, n. 2, p. 95, 2 fev. 2024.

COSTA, A. F. Antracnose da fava (*Phaseolus lunatus L.*) no nordeste causada por *Colletotrichum dematium f. truncata*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p. 315, 1986.

DE CAPDEVILLE, G. et al. Selection and testing of epiphytic yeasts to control anthracnose in post-harvest of papaya fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 111, n. 2, p. 179–185, jan. 2007.

DI FRANCESCO, A. et al. Production of volatile organic compounds by *Aureobasidium pullulans* as a potential mechanism of action against postharvest fruit pathogens. **Biological Control**, v. 81, p. 8–14, fev. 2015.

DIAS, M. D. et al. Current Status of Soybean Anthracnose Associated with *Colletotrichum truncatum* in Brazil and Argentina. **Plants**, v. 8, n. 11, p. 459, 29 out. 2019.

DIAS, M. D.; PINHEIRO, V. F.; CAFÉ-FILHO, A. C. Impact of anthracnose on the yield of soybean subjected to chemical control in the north region of Brazil. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 1, p. 18–23, mar. 2016.

DOS SANTOS SIQUEIRA GOMES, R. et al. Epidemiological aspects of lima beans anthracnose in different varieties. **European Journal of Plant Pathology**, v. 165, n. 4, p. 701–713, abr. 2023.

DROBY, S. et al. Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm? **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, n. 2, p. 137–145, maio 2009.

DUGAN, F. M.; ROBERTS, R. G. Etiology of Preharvest Colonization of Bing Cherry Fruit by Fungi. Em: **Phytopathology**. [s.l: s.n.]. v. 84p. 1031–1036.

DUJON, B. Yeast evolutionary genomics. **Nature Reviews Genetics**, v. 11, n. 7, p. 512–524, jul. 2010.

FALIH, A. M.; WAINWRIGHT, M. Nitrification, S-oxidation and P-solubilization by the soil yeast *Williopsis californica* and by *Saccharomyces cerevisiae*. **Mycological Research**, v. 99, n. 2, p. 200–204, 1 fev. 1995.

FERNANDEZ-SAN MILLAN, A. et al. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from Spanish vineyards: benefits for seedling development. **Microbiological Research**, v. 237, p. 126480, ago. 2020.

FERNANDEZ-SAN MILLAN, A. et al. Successful biocontrol of major postharvest and soil-borne plant pathogenic fungi by antagonistic yeasts. **Biological Control**, v. 160, p. 104683, set. 2021.

FERRAZ, P. et al. *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, p. 706675, 22 set. 2021.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109–112, abr. 2014.

FIGUEIREDO, M. B. DOENÇAS FÚNGICAS EMERGENTES EM GRANDES CULTURAS. **São Paulo**, v. 63, n. 1/2, p. 29–32, 2001.

FU, S.-F. et al. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from the phyllosphere and rhizosphere of *Drosera spatulata* Lab. **Fungal Biology**, v. 120, n. 3, p. 433–448, mar. 2016.

GEORGESCU, A.-M.; CORBU, V. M.; CSUTAK, O. Molecular Basis of Yeasts Antimicrobial Activity—Developing Innovative Strategies for Biomedicine and Biocontrol. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 46, n. 5, p. 4721–4750, 14 maio 2024.

GLUSHAKOVA, A. M.; YURKOV, A. M.; CHERNOV, I. YU. Massive isolation of anamorphous ascomycete yeasts *Candida oleophila* from plant phyllosphere. **Microbiology**, v. 76, n. 6, p. 799–803, dez. 2007.

GODOY, C. V. et al. Diagrammatic scales for bean diseases: Development and validation. v. 104, n. 4, p. 336–345, 1997.

GOMES, R. D. S. S. et al. REACTIONS OF LIMA BEAN (*Phaseolus lunatus* L.) ACCESSIONS TO *Colletotrichum truncatum*. **Revista Caatinga**, v. 35, n. 4, p. 809–817, out. 2022.

GOMES, R. L. F. et al. A lima bean core collection based on molecular markers. **Scientia Agricola**, v. 77, n. 2, p. e20180140, 2020.

- HAMDI, R.; ALZAWI, K. Using Fungi and Bacteria as Biological Control Agents of Fungal Plant Diseases an article. **Journal of University of Anbar for Pure Science**, v. 17, n. 1, p. 50–61, 11 jun. 2023.
- HARMAN, G. E. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**®, v. 96, n. 2, p. 190–194, fev. 2006.
- HASSAN, H. et al. Selecting Antagonistic Yeast for Postharvest Biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in Papaya Fruit and Possible Mechanisms Involved. **Agronomy**, v. 11, n. 4, p. 760, 13 abr. 2021.
- HE, D.-C. et al. Biological Control of Plant Diseases: An Evolutionary and Eco-Economic Consideration. **Pathogens**, v. 10, n. 10, p. 1311, 12 out. 2021.
- HENNING, A. A. et al. Manual de identificação de doenças de soja. n. 5, p. 76, abr. 2014.
- HERNIOU, E. A. et al. The Genome Sequence and Evolution of Baculoviruses. **Annual Review of Entomology**, v. 48, n. 1, p. 211–234, jan. 2003.
- HILLEN, T. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 3, p. 439–445, 2012.
- HUANG, R. et al. Control of Postharvest Botrytis Fruit Rot of Strawberry by Volatile Organic Compounds of *Candida intermedia*. **Phytopathology**®, v. 101, n. 7, p. 859–869, jul. 2011.
- HUANG, R. et al. Evaluation of *Sporidiobolus pararoseus* strain YCXT3 as biocontrol agent of *Botrytis cinerea* on post-harvest strawberry fruits. **Biological Control**, v. 62, n. 1, p. 53–63, jul. 2012.
- IBGE. **Produção de Fava no Brasil | IBGE**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/fava/br>>. Acesso em: 13 ago. 2024.
- JOHNSON, E. A.; ECHAVARRI-ERASUN, C. Yeast Biotechnology. Em: KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, TEUN. (Eds.). **The Yeasts, a Taxonomic Study**. 5th ed. ed. Burlington: Elsevier Science, 2011. v. 1p. 22–44.
- JÚNIOR, M. B. D. S. et al. Effect of temperature on *Colletotrichum truncatum* growth, and evaluation of its inoculum potential in soybean seed germination. **European Journal of Plant Pathology**, v. 160, n. 4, p. 999–1004, ago. 2021.
- JUNQUEIRA, S. F.; OLIVEIRA, E. A.; MASCARENHAS, DR. R. DE J. Caracterização físico-química da fava rajada (*Faseolus lunatos* L.) cultivada no sertão paraibano. p. 1–7, 2010.
- KARBALAEI, M.; REZAEI, S. A.; FARSIANI, H. *Pichia pastoris*: A highly successful expression system for optimal synthesis of heterologous proteins. **Journal of Cellular Physiology**, v. 235, n. 9, p. 5867–5881, set. 2020.
- KAUR, A.; VYAS, P. Nutrient Recycling by Microbes for Healthy Soil. Em: BHATIA, R. K.; WALIA, A. (Eds.). **Advancements in Microbial Biotechnology for Soil Health**. Singapore: Springer Nature, 2024. p. 173–187.

KHUNNAMWONG, P. et al. 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, jun. 2020.

KIRK, P. et al. **Dictionary of the Fungi**. Mycological Research. **Anais...** Wallingford: CABI Europe – UK, ago. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0953756209001178>>. Acesso em: 9 jun. 2024

KONSUE, W.; DETHOUP, T.; LIMTONG, S. Biological Control of Fruit Rot and Anthracnose of Postharvest Mango by Antagonistic Yeasts from Economic Crops Leaves. **Microorganisms**, v. 8, n. 3, p. 317, 25 fev. 2020.

KOWALSKA, J.; KRZYMIŃSKA, J.; TYBURSKI, J. Yeasts as a Potential Biological Agent in Plant Disease Protection and Yield Improvement—A Short Review. **Agriculture**, v. 12, n. 9, p. 1404, 6 set. 2022.

KRETSCHMER, M.; HAHN, M. Fungicide resistance and genetic diversity of *Botrytis cinerea* isolates from a vineyard in Germany. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 115, n. 5, p. 214–219, out. 2008.

KRICKA, W.; FITZPATRICK, J.; BOND, U. Metabolic engineering of yeasts by heterologous enzyme production for degradation of cellulose and hemicellulose from biomass: a perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, 22 abr. 2014.

KURTZMAN, C.; FELL, J.; BOEKHOUT, T. The Yeasts: a taxonomic study definition, classification and nomenclature of the yeasts. **The Yeasts a Taxonomic Study**, p. 3–9, 1 jan. 2011a.

KURTZMAN, C. P. Yeast species recognition from gene sequence analyses and other molecular methods. **Mycoscience**, v. 47, n. 2, p. 65–71, abr. 2006.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, TEUN. **The Yeasts A Taxonomic Study**. 5. ed. Burlington: Elsevier Science, 2011b. v. 1

LAHLALI, R.; BROSTAUX, Y.; JIJAKLI, M. H. Control of Apple Blue Mold by the Antagonistic Yeast *Pichia anomala* Strain K: Screening of UV Protectants for Preharvest Application. **Plant Disease**, v. 95, n. 3, p. 311–316, mar. 2011.

LARA-CAPISTRAN, L. et al. Efficiency of Marine Bacteria and Yeasts on the Biocontrol Activity of *Pythium ultimum* in Ancho-Type Pepper Seedlings. **Agronomy**, v. 10, n. 3, p. 408, 18 mar. 2020.

LEROUX, P.; WALKER, A.-S. Activity of fungicides and modulators of membrane drug transporters in field strains of *Botrytis cinerea* displaying multidrug resistance. **European Journal of Plant Pathology**, v. 135, n. 4, p. 683–693, abr. 2013.

LIMA, J. F. **Caracterização morfo-cultural e molecular de isolados de *Colletotrichum* agente causal da antracnose do feijão-fava no estado de Alagoas**. Mestrado (Dissertação)—Rio Largo-AL: Universidade Federal de Alagoas, 2013.

- LIMA, J. R. et al. Use of killer yeast in the management of postharvest papaya anthracnose. **Postharvest Biology and Technology**, v. 83, p. 58–64, set. 2013.
- LIMA, S. K. et al. Produção e consumo de produtos orgânicos no mundo e no Brasil. fev. 2020.
- 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, p. 647, 29 abr. 2020.
- LIMTONG, S.; KOOWADJANAKUL, N. Yeasts from phylloplane and their capability to produce indole-3-acetic acid. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 12, p. 3323–3335, dez. 2012.
- LIU, F. et al. Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. **Studies in Mycology**, v. 101, p. 1–56, jul. 2022.
- LIU, J. et al. Increase in antioxidant gene transcripts, stress tolerance and biocontrol efficacy of *Candida oleophila* following sublethal oxidative stress exposure. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 80, n. 3, p. 578–590, jun. 2012.
- LIU, Z. et al. 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, jan. 2018.
- LLORENS, E.; AGUSTÍ-BRISACH, C. Biocontrol of Plant Diseases by Means of Antagonist Microorganisms, Biostimulants and Induced Resistance as Alternatives to Chemicals. **Plants**, v. 11, n. 24, p. 3521, 14 dez. 2022.
- LONG, R. et al. **Lima Bean Production in California**. [s.l.] University of California, Agriculture and Natural Resources, 2014.
- LOPES, Â. C. DE A.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, A. S. F. DE. OLIVEIRA, M.C.P.; MEIRELLES, A.C.S.; LOPES, A.C.A.; GOMES, R.L.F. Fenologia e desenvolvimento vegetativo. In: LOPES, A.C. de A.; GOMES, R.L.F.; ARAÚJO, A.S.F. de (Ed.). 1ª ed. [s.l.: s.n.].
- MA, J. K.-C.; DRAKE, P. M. W.; CHRISTOU, P. The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants. **Nature Reviews Genetics**, v. 4, n. 10, p. 794–805, out. 2003.
- MA, Z.; MICHAILIDES, T. J. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. **Crop Protection**, v. 24, n. 10, p. 853–863, 1 out. 2005.
- MAICAS, S.; MATEO, J. J. The Life of *Saccharomyces* and *Non-Saccharomyces* Yeasts in Drinking Wine. **Microorganisms**, v. 11, n. 5, p. 1178, 30 abr. 2023.
- MAJUMDAR, A. Molecular techniques for the improvement of microbial biocontrol agents against plant pathogens. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 33, n. 1, p. 103, 12 out. 2023.
- MAMAEV, D.; ZVYAGILSKAYA, R. *Yarrowia lipolytica*: a multitalented yeast species of ecological significance. **FEMS Yeast Research**, v. 21, n. 2, p. foab008, 18 mar. 2021.

MANANDHAR, J. B. Penetration and Infection of Soybean Leaf Tissues by *Colletotrichum truncatum* and *Glomerella glycines*. **Phytopathology**, v. 75, n. 6, p. 704, 1985.

MELIN, P. et al. Survival of the biocontrol yeast *Pichia anomala* after long-term storage in liquid formulations at different temperatures, assessed by flow cytometry. **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, n. 2, p. 264–271, fev. 2006.

MÉLO-FILHO, L. R.; GUENTHER, M. A Resistência Sistêmica Induzida como Alternativa Sustentável ao Uso de Agrotóxicos. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 8, p. 27–38, 20 maio 2015.

MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro ed. EPSJV: IOC, 2010. v. 2

MOLOSSI, L. et al. Agricultural Support and Public Policies Improving Sustainability in Brazil's Beef Industry. **Sustainability**, v. 15, n. 6, p. 4801, 8 mar. 2023.

MONEY, N. P. **A ascensão da levedura: como um simples fungo moldou nossa civilização**. Tradução: Andreas K. Gombert. Campinas, Brasil: Unicamp, 2021.

MOSES, O. The Proximate Composition and Functional Properties of Full-Fat Flour, and Protein Isolate of Lima Bean (*Phaseolus Lunatus*). v. 1, n. 7, 2012.

MUCCILLI, S.; RESTUCCIA, C. Bioprotective Role of Yeasts. **Microorganisms**, v. 3, n. 4, p. 588–611, 10 out. 2015.

MUKHERJEE, S.; SEN, S. K. Exploration of novel rhizospheric yeast isolate as fertilizing soil inoculant for improvement of maize cultivation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 7, p. 1491–1499, maio 2015.

NAGY, L. G. et al. Latent homology and convergent regulatory evolution underlies the repeated emergence of yeasts. **Nature Communications**, v. 5, n. 1, p. 4471, 18 jul. 2014.

NASCIMENTO, A. D. et al. SEVERIDADE DA ANTRACNOSE DO FEIJÃO-FAVA AFETADA POR DOSES DE CÁLCIO E FONTES DE SILÍCIO. **Revista Ciência Agrícola**, v. 15, n. 2, p. 61, 28 dez. 2017.

NECHET, K. DE L. et al. Antracnose (*Colletotrichum truncatum*): doença importante para a soja (*Glycine max*) nos cerrados de Roraima. **Comunicado Técnico**, v. 5, p. 1–4, nov. 2003.

NOBRE, D. A. C. et al. Qualidade física, fisiológica e morfologia externa de sementes de dez variedades de feijão-fava (*Phaseolus lunatus L.*). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 4, p. 425–425, 26 dez. 2012.

NOETZOLD, R. et al. Variabilidade espacial de *Colletotrichum truncatum* em campo de soja sob três níveis de sanidade de sementes. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 1, p. 16–23, mar. 2014.

NUTARATAT, P. et al. Indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in the basidiomycetous yeast *Rhodospiridium paludigenum*. **Archives of Microbiology**, v. 198, n. 5, p. 429–437, jul. 2016.

O'BRIEN, P. A. Biological control of plant diseases. **Australasian Plant Pathology**, v. 46, n. 4, p. 293–304, jul. 2017.

OGUNJI, J. O.; ABDEL-KAREEM, M.; OSUIGWE, D. I. Nutrient Composition of some Tropical Legumes Capable of Substituting Fish Meal in Fish Diets. **Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics**, v. 104, n. 2, p. 143–148, 2003.

PARDO-LÓPEZ, L.; SOBERÓN, M.; BRAVO, A. *Bacillus thuringiensis* insecticidal three-domain Cry toxins: mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 1, p. 3–22, jan. 2013.

PICCININ, E.; DI PIERO, R. M.; PASCHOLATI, S. F. Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na produtividade de sorgo e na severidade de doenças foliares no campo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 5–9, fev. 2005.

PRABINA, B. J. et al. Isolation and Characterization of Multifunctional Yeast as Plant Probiotics for Better Crop Nutrition in Pulses. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 8, n. 01, p. 2711–2718, 20 jan. 2019.

PRETSCHER, J. et al. Yeasts from Different Habitats and Their Potential as Biocontrol Agents. **Fermentation**, v. 4, n. 2, p. 31, 24 abr. 2018.

RAO, R. P. et al. Aberrant Synthesis of Indole-3-Acetic Acid in *Saccharomyces cerevisiae* Triggers Morphogenic Transition, a Virulence Trait of Pathogenic Fungi. **Genetics**, v. 185, n. 1, p. 211–220, 1 maio 2010.

ROBERTS, P. D.; PERNEZNY, K. L.; KUCHARÉK, T. A. **Anthracnose on Pepper in Florida**. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/publication/PP104>>. Acesso em: 9 jun. 2024.

ROGÉRIO, F. et al. Phylogeny and variability of *Colletotrichum truncatum* associated with soybean anthracnose in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 2, p. 402–415, fev. 2017.

ROGÉRIO, F. et al. Multiple resistance of *Colletotrichum truncatum* from soybean to QoI and MBC fungicides in Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 172, n. 3, p. e13341, 2024.

ROSA-MAGRI, M. M.; TAU-K-TORNISIELO, S. M.; CECCATO-ANTONINI, S. R. Bioprospection of yeasts as biocontrol agents against phytopathogenic molds. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 1, p. 1–5, fev. 2011.

SAATH, K. C. D. O.; FACHINELLO, A. L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 2, p. 195–212, jun. 2018.

SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, C.; PÉREZ-MARTÍN, J. Dimorphism in fungal pathogens: *Candida albicans* and *Ustilago maydis*—similar inputs, different outputs. **Current Opinion in Microbiology**, v. 4, n. 2, p. 214–221, abr. 2001.

SANTOS, J. G. DOS et al. Incidência de *C. albicans* e *C. parapsilosis* em hospitais e o mecanismo de resistência aos fármacos / Incidence of *C. albicans* and *C. parapsilosis* in

hospitals and the drug resistance mechanism. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 40872–40886, 26 maio 2022.

SANTOS, J. O. et al. Genetic divergence for physical and chemical characters of seeds in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). Em: **Annual Report of the Bean improvement Cooperative**. [s.l.: s.n.]. v. 53p. 178–179.

SÃO-JOSÉ, C.; SANTOS, M. A.; SCHMITT, M. J. Viruses of Wine-Associated Yeasts and Bacteria. Em: KÖNIG, H.; UNDEN, G.; FRÖHLICH, J. (Eds.). **Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine**. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 133–154.

SARIAH, M. Potential of *Bacillus* spp. as a biocontrol agent for anthracnose fruit rot of chilli. **Malaysian Applied Biology (Malaysia)**, v. 23, p. 53–60, 1994.

SAUNTE, D. M. L.; GAITANIS, G.; HAY, R. J. Malassezia-Associated Skin Diseases, the Use of Diagnostics and Treatment. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 112, 20 mar. 2020.

SHERASIA, P. L. et al. Pulses and their by-products as animal feed. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, p. 222, 2017.

SILVA, B. F. E. et al. *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* como causadores de criptococose em pacientes imunossuprimidos: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 8, p. e7012842901, 15 ago. 2023.

SILVA, K. J. D. E S. et al. Recursos Genéticos. Em: LOPES, A. C. DE A.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, A. S. F. DE (Eds.). **A cultura do feijão-fava no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Ed. da Universidade Federal do Piauí, 2010a. p. 9–44.

SILVA, P. R. R. et al. Pragas. Em: LOPES, A. C. DE A.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, A. S. F. DE (Eds.). **A cultura do feijão-fava no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Ed. da Universidade Federal do Piauí, 2010b. p. 173–190.

SILVA-MATOS, R. R. S. D.; SOUSA, L. A. M. D.; MORAES, L. F. **Ciências agrárias: Estudos sistemáticos e pesquisas avançadas**. 1. ed. [s.l.] Atena Editora, 2022.

SLÁVIKOVÁ, E.; VADKERTIOVÁ, R.; VRÁNOVÁ, D. Yeasts colonizing the leaves of fruit trees. **Annals of Microbiology**, v. 59, n. 3, p. 419–424, set. 2009.

SLININGER, P. J. et al. Discovery and development of biological agents to control crop pests. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 2, p. 183–195, jun. 2003.

SMALL, E. **Top 100 Food Plants**. [s.l.] NRC Research Press, 2009.

SOARES, V. F. et al. *Phaseolus lunatus landraces* from northeast Brazil: genetic diversity and anthracnose resistance. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 27 ago. 2024.

SOUSA, E. S. et al. *Colletotrichum* species causing anthracnose on lima bean in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 1, p. 78–84, fev. 2018.

SPADARO, D. et al. Effect of culture media and pH on the biomass production and biocontrol efficacy of a *Metschnikowia pulcherrima* strain to be used as a biofungicide for postharvest disease control. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 56, n. 2, p. 128–137, fev. 2010.

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, jan. 2016.

STANGARLIN, J. R. et al. INDUÇÃO DE FITOALEXINAS EM SOJA E SORGO POR PREPARAÇÕES DE SACCHAROMYCES BOULARDII. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 1, p. 91–98, mar. 2010.

STEN, J. M.; DIENGNGAN, S.; DAS, S. ANTAGONIST YEAST: AN EFFICIENT BIOAGENT FOR THE CONTROL OF POST HARVEST PATHOGENS OF FRUITS. **Science and Research (IJASR)**, v. 6, n. 2, p. 195–200, 2016.

SUI, Y. et al. Responses of Yeast Biocontrol Agents to Environmental Stress. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 9, p. 2968–2975, maio 2015.

SYED AB RAHMAN, S. F. et al. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. **Plant Science**, v. 267, p. 102–111, fev. 2018.

SZEWCZYK, B. et al. Baculoviruses — re-emerging biopesticides. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 2, p. 143–160, mar. 2006.

TALHINHAS, P.; BARONCELLI, R. *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. **Fungal Diversity**, v. 110, n. 1, p. 109–198, set. 2021.

TEIXIDÓ et al. Ecophysiological responses of the biocontrol yeast *Candida sake* to water, temperature and pH stress. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, n. 2, p. 192–200, fev. 1998.

TIAN, Y. et al. The preservation effect of *Metschnikowia pulcherrima* yeast on anthracnose of postharvest mango fruits and the possible mechanism. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 95–105, fev. 2018.

TORDIN, C. **Ciência desenvolve protocolo para avaliar qualidade dos produtos biológicos à base de bacilos no Brasil**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/75745266/ciencia-desenvolve-protocolo-para-avaliar-qualidade-dos-produtos-biologicos-a-base-de-bacilos-no-brasil>>. Acesso em: 10 mar. 2023.

TORRES-CALZADA, C. et al. Sensitivity of *Colletotrichum truncatum* to Four Fungicides and Characterization of Thiabendazole-Resistant Isolates. **Plant Disease**, v. 99, n. 11, p. 1590–1595, nov. 2015.

TSEGAYE, Z. et al. Concept, Principle and Application of Biological Control and their Role in Sustainable Plant Diseases Management Strategies. **International Journal of Research Studies in Biosciences**, v. 6, n. 4, 2018.

TURGUT GENÇ, T.; GÜNAY, M. Internal transcribed spacer (ITS) sequence-based identification of yeast biota on pomegranate surface and determination of extracellular enzyme profile. **Nusantara Bioscience**, v. 12, n. 1, 24 abr. 2020.

VELA-CORCÍA, D. et al. MFS transporter from *Botrytis cinerea* provides tolerance to glucosinolate-breakdown products and is required for pathogenicity. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 2886, 28 jun. 2019.

VIEIRA, R. F. A cultura do feijão-fava. **Informe Agropecuário**, v. 16, n. 174, p. 30–37, 1992.

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

WAITE-CUSIC, J. **Is there cyanide in lima beans?** Featured question. Disponível em: <<https://extension.oregonstate.edu/ask-extension/featured/there-cyanide-lima-beans>>. Acesso em: 7 jun. 2024.

WANG, Y. et al. Acid adaptation and biocontrol efficacy of antagonistic marine yeast *Rhodospiridium paludigenum*. **Annals of Microbiology**, v. 64, n. 2, p. 503–508, jun. 2014.

WEIDEMANN, G. J. Host Specificity of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* and *C. truncatum* in the Leguminosae. **Phytopathology**, v. 78, n. 7, p. 986, 1988.

WIRTH, F.; GOLDANI, L. Z. Epidemiology of *Rhodotorula*: An Emerging Pathogen. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2012, p. 1–7, 2012.

YEHIA, H. M. et al. Killer yeast isolated from some foods and its biological activity. **Food Science and Technology**, v. 42, p. e119721, 2022.

ZHANG, H. et al. Augmentation of biocontrol agents with physical methods against postharvest diseases of fruits and vegetables. **Trends in Food Science & Technology**, v. 69, p. 36–45, 1 nov. 2017.

ZHANG, Y. et al. Identification and characterization of *Colletotrichum* species associated with ornamental plants in Southern China. **Mycosphere**, v. 14, n. si2, p. 262–302, 2023.

ZHIMO, V. Y.; BHUTIA, D. D.; SAHA, J. BIOLOGICAL CONTROL OF POST HARVEST FRUIT DISEASES USING ANTAGONISTIC YEASTS IN INDIA. **Journal of Plant Pathology**, v. 98, n. 2, p. 275–283, 2016.

ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, n. 6, p. 553–596, jun. 2007.