

**Secretaria de Desenvolvimento Rural de Pernambuco  
Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA**

Controle alternativo e biológico da murcha de *Fusarium* nos feijões caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Waltp.) e comum (*Phaseolus vulgaris* L.), e promoção de crescimento vegetal utilizando isolados de *Trichoderma*.

Local: Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA  
Aluno: Rewysson Ales Ribeiro da Silva  
Curso: Agronomia  
Processo: BIC-0951-5.01/19  
Orientador: Dr. Antônio Félix da Costa  
Período de vigência da bolsa: 01/08/2019 à 31/07/2020

Recife - PE  
2020

## INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) adaptam-se às mais variadas condições ambientais, o que possibilita sua exploração sob diferentes sistemas de produção (FROTA et al., 2008; BRITO et al., 2009). Contudo, sabe-se que as culturas de feijão-comum e do feijão-caupi são consideradas sensíveis tanto ao déficit quanto ao excesso de água no solo e sua produtividade é função de diversos fatores, destacando-se as inter-relações entre solo-água-planta-atmosfera e manejo de irrigação, visando à máxima produção e à boa qualidade do produto (VALADÃO & KLAR, 1996).

Além dos fatores citados, as doenças destacam-se como um dos mais importantes na diminuição da produtividade do feijoeiro, especialmente as causadas por fungos de solo, que podem causar prejuízos severos, como diminuição das qualidades fisiológicas, nutricionais e sanitária do produto colhido, afetando o preço e sua comercialização (BIAZON, 2003). Os agentes causais dessas doenças apresentam estruturas de resistência que os ajudam a sobreviver no solo por vários anos. Esse grupo de patógenos se caracteriza por causar doença no sistema radicular ou até mesmo na parte aérea das plantas (SARTORATO, 2007).

As doenças causadas por fungos do gênero *Fusarium* apresentam difícil controle devido à alta variabilidade genética, sendo necessária a combinação de várias medidas a fim de fornecer resultados efetivos. Dentre essas medidas destaca-se o controle biológico que apresenta as vantagens de se utilizar agentes biológicos como controle de doenças em plantas (CAVERO et al., 2015; MILANESI et al., 2013).

O método mais utilizado para controle de doenças no campo ainda é o controle químico, porém o uso crescente e indiscriminado destes produtos tem oferecido riscos ambientais e à saúde humana e animal, por isso, novas tecnologias que respeitem o ecossistema e não ofereçam riscos de contaminação estão se tornando cada vez mais importantes para o controle de doenças e pragas, como, por exemplo, o controle alternativo, utilizando-se extratos vegetais e óleos essenciais que apresentam baixa toxidez e rápida degradação (GHINI & KIMATI, 2000; BERNARDO et al., 2002). Microrganismos também são utilizados para minimizar os possíveis danos com fitopatógenos em culturas de importância econômica.

O gênero *Trichoderma* possui espécies que são economicamente importantes, principalmente pela sua capacidade de produzir enzimas, antibióticos e atuação no

controle biológico (MENEZES et al., 2010). Vários trabalhos têm demonstrado a eficiência de isolados do gênero *Trichoderma* no controle biológico em plantas, por exemplo: *F. solani*, *S. sclerotiorum*, *M. phaseolina*, *F. graminearum* (CARVALHO et al., 2015; KHALEDI & TAHERI, 2016; SARAVANAKUMAR et al., 2017; SILVA et al., 2014).

Além disso, espécies de *Trichoderma* podem atuar na promoção do crescimento vegetal, influenciando positivamente na germinação de sementes, no desenvolvimento e rendimento da cultura devido à produção de substâncias promotoras de crescimento e melhoria na nutrição das plantas, principalmente pela solubilização do fósforo (OLIVEIRA et al., 2012; SILVA et al., 2012). Devido a essa versatilidade, várias espécies de importância econômica já vêm sendo estudadas com relação à promoção de crescimento de plantas como feijão-comum, soja, arroz e milho (CHAGAS et al., 2017; PEDRO et al., 2012).

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar o efeito da inibição do crescimento micelial e esporulação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* por extratos aquoso e hidroalcoólico de agave (*Agave sisalana*) e mastruz (*Chenopodium ambrosioides*) *in vitro*;
- Avaliar a resistência de cultivares de feijão-caupi e feijão-comum a *F. oxysporum*;
- Avaliar o efeito da promoção do crescimento de plantas de feijão-caupi e feijão-comum utilizando espécies de *Trichoderma*;
- Avaliar *in vivo* o efeito antagonista de espécies de *Trichoderma* sobre *Fusarium oxysporum* isolados do solo.

## **METODOLOGIA**

### **Obtenção dos extratos vegetais:**

Para obtenção do extrato hidroalcoólico de agave, o material foi triturado e, em seguida, feita uma solução estoque de 30% com o seguinte procedimento: 150g do agave triturado foram mantidos em repouso em 500ml de álcool (70%) durante duas horas, a solução foi filtrada e levada ao banho-maria (45°C) por 16h para a eliminação

completa do álcool. Ao final, o volume inicial foi restabelecido adicionando-se água destilada e a solução foi esterilizada em autoclave a vapor fluente por 15 minutos. Posteriormente, o extrato hidroalcoólico foi adicionado ao meio BDA ainda fundente nas concentrações de 5%, 10% e 20% (LOPES et. al., 2018; CELOTO et. al., 2008).

Para o extrato aquoso de agave, o material foi cortado, triturado com água destilada, na proporção de 30% de agave e 70% de água destilada. A mistura permaneceu em repouso por 2h e foi filtrada. O extrato foi autoclavado a vapor fluente por 15 minutos. Feito isso, o material foi adicionado proporcionalmente em meio de cultura BDA nas proporções de 5%, 10% e 20% (LOPES et. al., 2018; CELOTO et. al., 2008).

Para obtenção do extrato de mastruz, o material vegetal foi colocado em estufa a 60°C e posteriormente moído e armazenado em recipientes hermeticamente fechados e não translúcidos. Para o extrato hidroalcoólico, 300g do pó do mastruz foram adicionados a 1000ml de álcool (70%), permanecendo em repouso por duas horas, filtrado e, por fim, deixado em banho maria por 16 horas a 45°C até a evaporação do álcool; ao final, o volume inicial foi restabelecido adicionando-se água destilada e a solução foi esterilizada em autoclave a vapor fluente por 15 minutos. Para o preparo do extrato aquoso, 150g do pó do mastruz foram adicionados a 1000ml de água destilada quente, ficando de repouso por duas horas. Posteriormente, foi filtrado e misturado em meio BDA, nas proporções de 5%, 10% e 20% (LOPES et. al., 2018; CELOTO et. al., 2008).

Análise da inibição do crescimento micelial e esporulação de fitopatógenos *in vitro* por extratos vegetais: ao meio de cultura Batata, Dextrose, Agar (BDA) fundente autoclavado foi adicionado extrato de agave (*Agave sisalana*) em diferentes concentrações (0%, 5%, 10% e 20%) e vertido em placas de Petri. Posteriormente, discos de 5mm de diâmetro, contendo micélio de dois isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e um de *F. oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum*, individualmente, foram transferidos para o centro de placas de Petri e incubadas em câmara tipo BOD a 25°C por sete dias, na ausência de luz.. O ensaio foi instalado utilizando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, e consistiu de quatro tratamentos com cinco repetições, sendo utilizado como controle o meio de cultura sem adição de extrato. Foi medido o crescimento radial das colônias em dois eixos ortogonais, posteriormente

calculada a média e em seguida foi calculada a percentagens de inibição do crescimento micelial (DOMINGUEZ et. al., 2009; EDGINTON et. al., 1971).

Promoção de crescimento vegetal utilizando isolados de *Trichoderma*: para produção do inóculo, os isolados de *Trichoderma* foram repicados em meio de cultura BDA, posteriormente agitados em Tween-80 (0,1%) e preparada uma suspensão de  $10^7$  conídios/ml. Essa suspensão foi usada para tratar sementes de feijão-comum e feijão-caupi, sendo mais tarde plantadas quatro sementes por vasos, e 30 dias após a germinação foram avaliados altura da parte aérea, peso fresco e peso seco da parte aérea (com auxílio de balança semianalítica); para peso seco, a parte aérea das plantas foi colocada em uma estufa a 70°C até peso constante..

Avaliação da resistência de cultivares de feijão-caupi e feijão-comum a *F. oxysporum*: Plântulas com sete dias de germinação, mantidas em bancadas, em areia lavada e esterilizada, foram retiradas e o sistema radicular lavado e cortado a cerca de 1cm da coifa,; submersas por cinco minutos em uma suspensão de conídios ( $10^7$  conídios/ml), e transplantadas para vasos plásticos, contendo solo esterilizado (CAVALCANTI et. al., 2002). Cada vaso continha três plantas de cada acesso. As avaliações foram realizadas em até 18 dias após a inoculação, utilizando-se escala de notas descrita por Schoonhoven & Pastor-Corrales (1987).

Biocontrole em casa de vegetação: Para avaliação de *Trichoderma* no controle de *Fusarium* em casa de vegetação foram selecionados quatro isolados que apresentaram bons resultados na promoção de crescimento do feijoeiro. Para produção do inóculo de *Trichoderma* foi empregada a metodologia descrita acima (CARVALHO et. al., 2011a). Para o biocontrole foi utilizado um disco de micélio (5 mm) de *Fusarium* na cova da semente, obtido do crescimento das colônias com sete dias de crescimento, usando-se a mesma metodologia para o *Trichoderma*. O ensaio foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Após 18 dias foram realizadas avaliações, sendo as plantas removidas para obtenção dos sintomas causadas pelo patógeno (MENEZES et. al., 2004).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### ***Ação fungitóxica com extratos vegetais***

O crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* 1 e *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em meio Batata, Dextrose, Ágar com extrato aquoso de agave não apresentou diferença significativa a nível de 5% de probabilidade de acordo com o teste de Tukey para as quatro concentrações (0%, 5%, 10% e 20%). Quando se observa o crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* 2, verifica-se que o diâmetro de crescimento do micélio foi maior com a adição do extrato de agave (Tabela 1). Resultados diferentes foram observados por Morais et. al. (2010), constatando que o extrato aquoso de agave reduziu o crescimento micelial de *F. oxysporum* isolado de feijão vagem à medida que a porcentagem de extrato aumentava no meio de cultura (0%, 10%, 20%, 30% e 40%).

Quanto ao crescimento micelial dos fungos testados com extrato hidroalcoólico do agave, não apresentou diferença significativa entre as diferentes concentrações do extrato, de acordo com o teste de Tukey a 5% (Tabela 1).

Tabela 1: Ação fungitóxica de extratos de agave sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum*

Espécies	Extrato aquoso					Extrato hidroalcoólico				
	Concentrações (%)					Concentrações (%)				
	0	5	10	20	CV%	0	5	10	20	CV%
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> 1	8,85 a	8,45 a	8,85 a	8,90 a	3,80	9,00 a	9,00 a	8,75 a	8,90 a	2,35
<i>F.oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> 2	6,85 b	8,60 a	9,00 a	9,00 a	5,81	9,00 a	8,40 a	7,95 a	7,90 a	12,79
<i>F.oxysporum</i> f. sp. <i>tracheiphilum</i>	8,30 a	8,70 a	8,55 a	8,80 a	6,14	8,95 a	8,90 ab	8,30 b	8,85 ab	4,29

A análise das atividades fungitóxicas com extratos aquoso e hidroalcoólico de mastruz mostrou resultados significativos para o três isolados estudados, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (1 e 2) e *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, quanto ao crescimento micelial, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 2). O extrato aquoso de mastruz reduziu significativamente à medida em que as concentrações aumentaram, como observado na Tabela 2, em que o diâmetro médio micelial no tratamento sem adição de extrato no meio de cultura (0%) foi de 9cm, e 4,1cm em 20% do extrato aquoso do mastruz, para o *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* 1; (Figura 1). Todos os tratamentos com extrato hidroalcoólico de mastruz tiveram resultados significativos (Tabela 2), porém, o *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* reduziu mais o crescimento micelial se comparado aos outros dois isolados, saindo de uma média de 9 cm no tratamento controle para 5,80 cm em 20% (Tabela 2) (Figura 2). David (2013) analisou a ação fungitóxica de extratos alcoólico e acético de mastruz em *F. oxysporum* f. sp. *cubense* observando inibição do crescimento micelial a partir de

5% do extrato, porém o extrato alcoólico apresentou pouca toxicidade, como observado no presente estudo, quando avaliado o efeito do extrato vegetal sobre os patógenos, não inibindo o crescimento completo. Freire et. al. (2015) observaram que o extrato alcoólico de mastruz não foi eficaz para o controle de *Lasiodiplodia* sp. na concentração de 1%, o que pode diferir devido à metodologia empregada. Silva (2015) verificou a fungitoxicidade de extrato alcoólico de mastruz, no qual conseguiu inibir 5,28% do crescimento micelial do *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*.

A atividade fungitóxica do extrato aquoso de agave sobre a esporulação dos fitopatógenos não apresentou diferenças significativas entre as diferentes concentrações testadas (Tabela 3). No entanto, a atividade fungitóxica do extrato hidroalcoólico sobre a esporulação de *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* foi observada à medida em que se aumentam as concentrações  $15,21 \times 10^6$  conídios/mL no tratamento controle e atingiu  $3,38 \times 10^6$  conídios/mL em 20% do extrato hidroalcoólico de agave (Figura 4); os dois isolados de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4). O ensaio de avaliação de esporulação foi instalado em delineamento experimento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial. A avaliação ocorreu aos sete dias de crescimento dos fungos. Na aplicação do extrato aquoso de mastruz houve interações significativa entre as concentrações e fungos. A menor média foi alcançada pelo *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* 1 na concentração de 20% do extrato aquoso do mastruz, e seu comportamento não seguiu um padrão, subindo para  $36,32 \times 10^6$  conídios/mL em 5% e baixando até  $2,06 \times 10^6$  conídios/mL em 20% da concentração; assim, conclui-se que o extrato de mastruz aquoso em baixas concentrações beneficia a esporulação, baseado também no *F. o. f. sp. phaseoli* 2 que apresentou comportamento semelhante, uma crescente até  $39,25 \times 10^6$  conídios/mL em 10% e logo em seguida uma queda drástica para  $9,83 \times 10^6$  conídios/mL em 20%; e o *F. o. f. sp. tracheiphilum*, subindo até  $21 \times 10^6$  conídios/mL em 5% e decaindo até  $2,42 \times 10^6$  conídios/mL em 20% (Tabela 4) (Figura 4).

Fontes (2012) testou extratos aquosos de alho, alecrim, arruda e gengibre em diferentes concentrações sobre a esporulação de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, observando redução a partir de 10% das concentrações, com exceção do alecrim que respondeu significativamente em 30% da concentração. Pires (2015) observou a esporulação de *Fusarium verticillioides* sobre efeito de extratos aquosos de alecrim, alho, carqueja e vassoura-lageana, encontrando atividade toxica apenas com o extrato aquoso de alho, enquanto os extratos aquosos de carqueja e vassoura-lageana não inibiram a produção de esporos de *F. verticillioides*

Tabela 2: Ação fungitóxica de extrato de mastruz sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum*.

Espécies	Extrato aquoso	Extrato hidroalcoólico
	Concentrações (%)	Concentrações (%)

	0	5	10	20	CV%	0	5	10	20	CV%
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. phaseoli 1	9,00 a	7,85 b	6,80 c	4,10 d	7,27	9,00 a	6,90 b	6,50 bc	5,95 c	5,44
<i>F. oxysporum</i> f. sp. phaseoli 2	9,00 a	7,70 b	7,10b	5,10 c	5,13	9,00 a	8,15 b	7,20 c	6,80 c	5,37
<i>F. oxysporum</i> f. sp. tracheiphilum	9,00 a	8,65 a	7,25b	5,60 c	7,16	9,00 a	7,40 b	7,10 b	5,80 c	6,11

Na mesma linha, mesma letra não difere estatisticamente entre si pelo teste Tukey 5% de probabilidade.

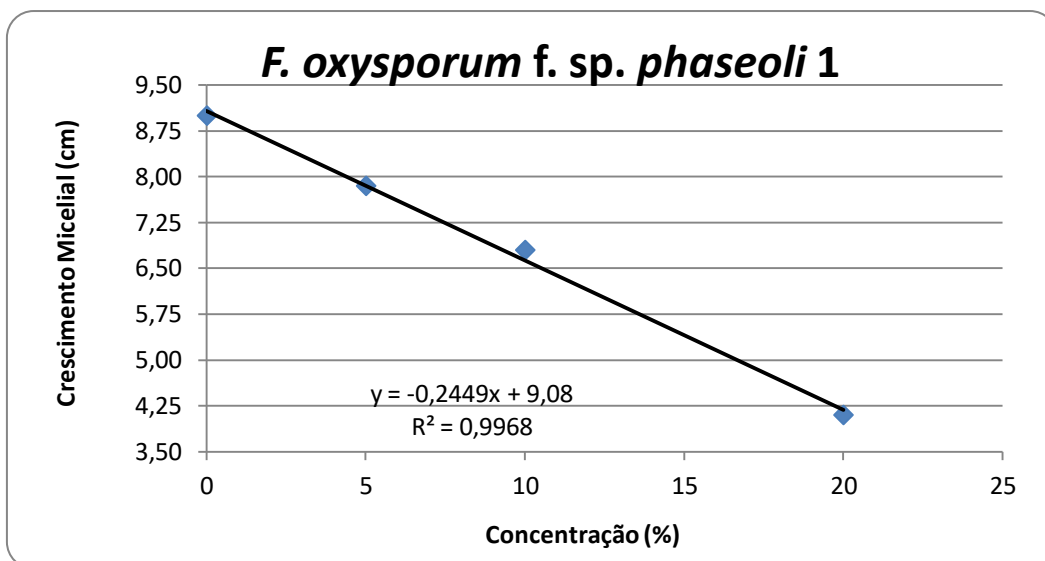


Figura 1: Ação fungitóxica de extrato aquoso de mastruz sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli 1.

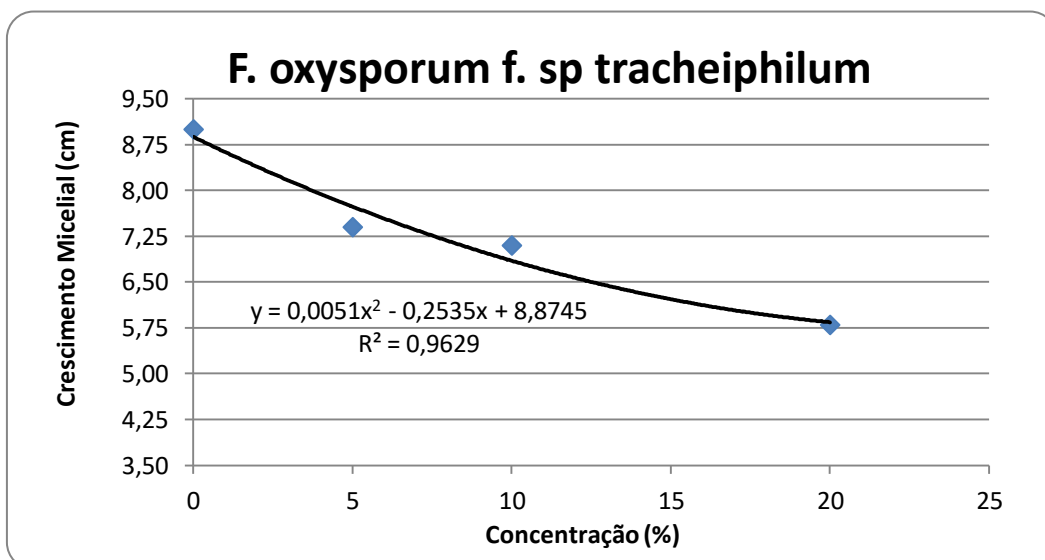


Figura 2: Ação fungitóxica de extrato hidroalcoólico de mastruz sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. tracheiphilum.



Tabela 3: Ação fungitóxica de extrato aquoso de agave sobre a esporulação de *Fusarium oxysporum* ( $1 \times 10^6$  conídios/ml)

Fungos	Extratos aquoso de agave				Média
	Concentração(%)				
	0	5	10	20	
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> 1	17,30	15,17	14,66	13,67	15.20 a
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> 2	12,44	16,06	11,74	10,20	12.61 ab
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>tracheiphilum</i>	17,48	7,50	7,51	14,05	11.64 b
Média de Concentração	15.74 A	12.91 A	11.30 A	12.64 A	13,15

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e Maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

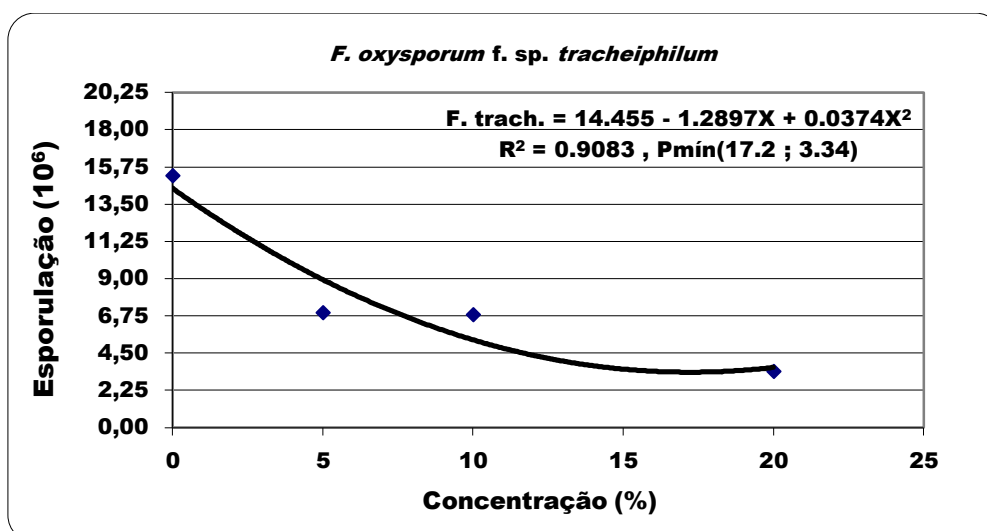


Figura 3: Ação fungitóxica do extrato hidroalcoólico de agave sobre a esporulação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*.

Tabela 4: Ação fungitóxica de extrato hidroalcoólico de agave sobre a esporulação de *Fusarium oxysporum* ( $1 \times 10^6$  conídios/ml).

Fungos	Extrato hidroalcoólico de agave			
	Concentração(%)			
	0	5	10	20
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> 1	16,37 a A	15,95 a A	13,81 a A	9,93 a A
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> 2	9,22 b A	8,91 b A	7,90 b A	8,37 a A
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>tracheiphilum</i>	15,21 a A	6,93 b B	6,81 b B	3,38 b C

Mesma letra minúscula na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de prob. Mesma letra maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de prob.

Tabela 5: Ação fungitóxica de extrato aquoso de mastruz sobre a esporulação de *Fusarium oxysporum*

Fungos	Extratos aquoso de mastruz			
	Concentração(%)			
	0	5	10	20
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> 1	10.77 a C	36.32 a A	16.94 b B	2.06 b D
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> 2	12.51 a B	28.07 ab A	39.25 a A	9.83 a B
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>tracheiphilum</i>	13.46 a B	21.00 b A	5.61 c C	2.42 b D

Mesma letra minúscula na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste.  
 Mesma letra maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste.  
 Tukey (P≤0.05).

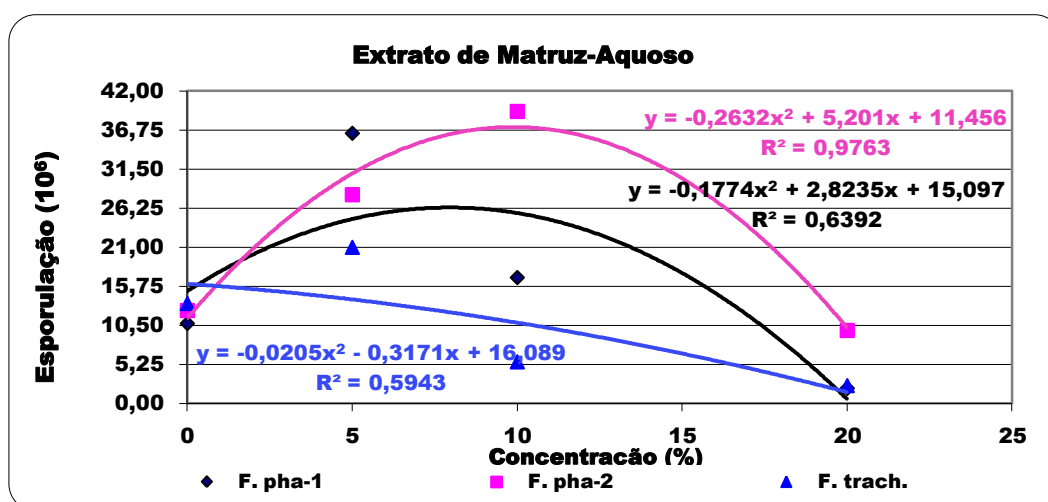


Figura 4: Ação fungitóxica de extrato aquoso de mastruz sobre a esporulação de *Fusarium oxysporum*.

Foi observado que, com o extrato hidroalcoólico de mastruz, *F. oxysporum* f sp *phaseoli* 1 e 2 obtiveram seus valores médios de esporulação aumentados a partir de 5% da concentração do extrato, diferente de *Fusarium oxysporum* f sp *tracheiphilum* que diminuiu sua esporulação à medida em que aumentavam-se as concentrações, partindo de  $15,65 \times 10^6$  conídios/mL na concentração 0% do extrato e alcançando  $3,13 \times 10^6$  conídios/mL em 20% da concentração do extrato (Tabela 6) (Figura 5). David (2013) trabalhou com dois extratos diferentes de mastruz, alcoólico e acético, e obteve resultados diferentes entre os extratos para controle do *F. oxysporum* f. sp. *cubense*; conseguindo zerar a esporulação com extrato acético de mastruz a partir de 5% da concentração do extrato, e reduziu significativamente a esporulação com o alcoólico, semelhante ao extrato hidroalcoólico de mastruz aqui trabalhado para o *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*; porém, diferente do controle do *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* 1 e 2 que aumentaram sua produção de conídios.

Tabela 6: Ação fungitóxica de extrato hidroalcoólico de mastruz sobre a esporulação de *Fusarium oxysporum*.

Fungos	Extratos hidroalcoólico de mastruz			
	Concentração(%)			
	0	5	10	20
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> 1	12.19b B	16.35b AB	15.41b AB	21.87a A
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> 2	15.87a B	30.27a A	34.80a A	24.97a A
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>tracheiphilum</i>	15.65ab A	14.03b AB	10.31c B	3.13 b C

Mesmas letra minúscula na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste.

Mesmas letra maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste.

Tukey (P≤0.05).

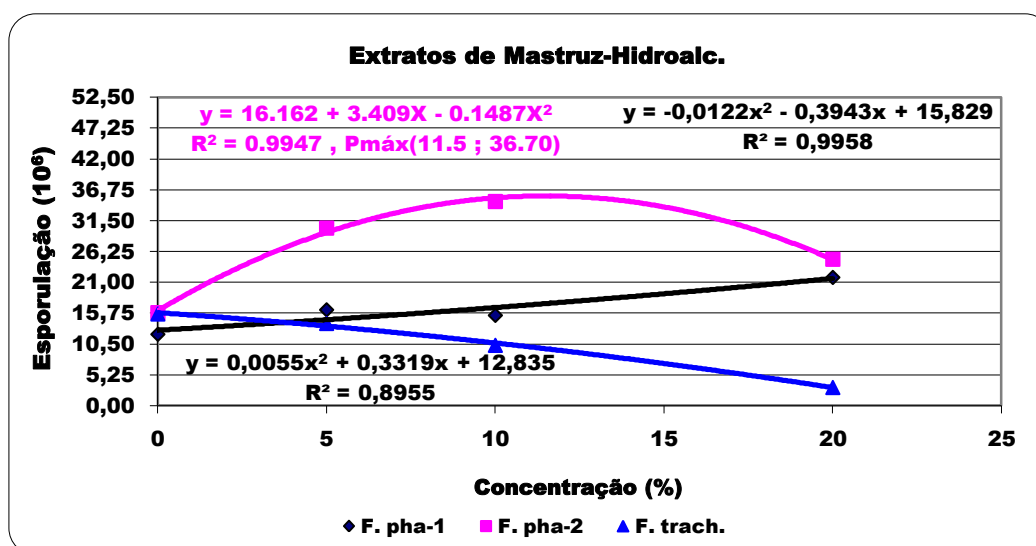


Figura 5: Ação fungitóxica de extrato hidroalcoólico de mastruz sobre a esporulação de *Fusarium oxysporum*.

### Resistência de cultivares de feijão-caupi e feijão-comum a *F. oxysporum*

Em ensaio realizado de acordo com a metodologia especificada acima, nenhuma das cultivares apresentou resistência ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, inclusive BRS Tumucumaque, já reconhecida como suscetível, à exceção de Miranda IPA 207, também considerada resistente. Essas duas cultivares foram inseridas como testemunhas (Tabela 7).

Albuquerque, Coelho e Perez (2001) estudaram a resistência ao patógeno em 15 variedades do feijão-caupi, onde foi observado que 11 variedades apresentaram resistência ao *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, uma variedade apresentou suscetibilidade e três variedades apresentaram resistência, avaliando a parte aérea. Noronha et. al. (2013) testaram 36 genótipos de feijão-caupi e encontraram duas variedades altamente resistente ao *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*.

Tabela – 7. Seleção de cultivares de feijão-caupi a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*

Cultivar	Reação	Cultivar	Reação
Tucuruí 1	S	Cavaleiro 13	S
Tucuruí 2	S	Cavaleiro 14	S
Tucuruí 3	S	Cavaleiro 15	S
Tucuruí 4	S	Cavaleiro 16	S
Tucuruí 5	S	Cavaleiro 17	S
Tucuruí 6	S	Cavaleiro 18	S
Cavaleiro 1	S	Cavaleiro 19	S
Cavaleiro 2	S	Cavaleiro 21	S
Cavaleiro 10	S	BRS Tumucumaque	S
Cavaleiro 11	S	Miranda IPA 207	R

S :Suscetibilidade.; R: Resistência.

O ensaio com feijão comum foi realizado com 18 cultivares mais duas testemunhas, resistente e suscetível, Princesa e IPA 74-19, respectivamente, cujos resultados se encontram na Tabela 8. Nota-se que as testemunhas reagiram como esperado, enquanto as demais cultivares apresentaram reações específicas, de acordo com cada genótipo. Dez cultivares se apresentaram como resistentes e oito, suscetíveis ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Todas as plantas consideradas suscetíveis morreram até a avaliação final.

Foram analisadas 16 cultivares do feijão-comum quanto a resistência a *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* durante 30 dias, em que as variedades Goiano Precoce, RH 3104 e IPA 09 foram resistente ao patógeno, sete intermediárias e seis suscetíveis à doença (CAVALCANTI, COELHO E PEREZ (2001). Sala, Ito e Carbonel (2006) avaliaram a resistência de 104 genótipos de feijão-comum a quatro linhagens de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, encontrando 35 genótipos resistentes às quatro linhagens do patógenos.

Tabela – 8. Seleção de cultivares de feijão comum a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

Cultivar	Reação	Cultivar	Reação
Macanudo	R	Crista de galo	S
Jacobina	S	Enxofre	R
Africano 1	R	Mulatinho boi deitado	S
Africano 2	R	Preto bala	R
Africano 3	R	Rosinha	S

Africano 4	R	Sempre assim	S
Gordo	S	Carioca pequeno	R
Bolinha	R	IPA-10	R
Leite	S	Lavandeira	S
Princesa	R	IPa 74-19	S

S: representa suscetibilidade; R: representa Resistência.

### Promoção de crescimento vegetal

Foram analisadas a altura, o peso de massa seca e o peso de massa fresca da parte aérea das plantas de feijão comum e feijão-caupi com 17 e 18 isolados de *Trichoderma*, respectivamente. utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para *Phaseolus vulgaris*, com relação à altura, o tratamento controle obteve uma altura média de 22,99cm, diferindo estatisticamente e positivamente do isolado de *Trichoderma* sp. 13 que alcançou 32,83cm de altura, outros isolados tiveram médias de altura maiores que o controle, porém não houve diferença significativa (Tabela 9). Para o peso de massa fresca, os isolados *Trichoderma* sp. 13, *Trichoderma* 05 e *Trichoderma asperelloides* obtiveram 13,03g, 12,41g e 11,28g, respectivamente, mostrando ser eficientes, diferindo estatisticamente do controle (8,13g) (Tabela 9). Analisando o peso de massa seca, as médias não diferiram significativamente e positivamente do controle, mostrando-se ineficiência para a produção de massa seca, porém três isolados diferiram do tratamento controle significativamente e negativamente, foram elas *Trichoderma* sp. 06 *Trichoderma* sp. 16 e *Trichoderma* sp. 12., com as médias mais baixas.

Carvalho et al. (2011) avaliaram a inoculação com seis isolados do *Trichoderma harzianum* na promoção do crescimento inicial de feijoeiro comum. Os resultados foram semelhantes aos do presente estudo, quando quatro dos seis apresentaram diferença significativa maiores que o tratamento controle com relação à altura da parte aérea das plantas, segundo o teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ). Aguiar et. al. (2012) utilizaram três isolados de *Trichoderma viride* na forma de pó biológico em feijoeiros tipo Carioca, e obtiveram diferenças significativas para altura e peso de massa seca pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, semelhante a este trabalho.

Tabela 9: Promoção de crescimento em *Phaseolus vulgaris* com o uso de *Trichoderma* sp para altura, peso de massa fresca e massa seca.

Variedades	Altura (cm)	Variedades	Peso da massa verde (g)	Variedades	Peso da massa seca (g)
<i>Trichoderma</i> sp. 13	32,83 a	<i>Trichoderma</i> sp. 13	13,03 a	<i>Trichoderma</i> sp. 05	1,80 a
<i>Trichoderma asperellum</i>	28,36 ab	<i>Trichoderma</i> sp. 05	12,41 ab	<i>Trichoderma</i> sp. 09	1,73 ab
<i>Trichoderma</i> sp. 02	25,80 bc	<i>Trichoderma asperelloides</i>	11,28 abc	<i>Trichoderma</i> sp. 13	1,65 abc
<i>Trichoderma</i> sp. 05	25,10 bcd	<i>Trichoderma</i> sp. 09	09,98 bcd	<i>Trichoderma</i> sp. 02	1,63 abc

<i>Trichoderma asperelloides</i>	23,85 bcde	<i>Trichoderma</i> sp. 02	09,60 bcde	<i>Trichoderma asperelloides</i>	1,53 abcd
<i>Trichoderma</i> sp. 09	23,77 bcde	<i>Trichoderma asperellum</i>	08,47 cdef	<i>Trichoderma</i> sp. 01	1,52 abcd
<i>Trichoderma</i> sp. 03	23,23 bcdef	Controle	08,13 def	<i>Trichoderma</i> sp. 08	1,39 abcd
<i>Trichoderma</i> sp. 01	23,18 bcdef	<i>Trichoderma</i> sp. 04	07,37 defg	Controle	1,33 abcde
Controle	22,99 bcdef	<i>Trichoderma</i> sp. 03	07,25 defgh	<i>Trichoderma</i> sp. 04	1,29 abcde
<i>Trichoderma</i> sp. 16	22,72 bcdef	<i>Trichoderma</i> sp. 01	07,20 defgh	<i>Trichoderma</i> sp. 03	1,24 bcdef
<i>Trichoderma</i> sp. 12	22,21 bcdef	<i>Trichoderma</i> sp. 06	06,86 efgh	<i>Trichoderma asperellum</i>	1,23 bcdef
<i>Trichoderma</i> sp. 04	20,56 cdef	<i>Trichoderma</i> sp. 10	06,74 efgh	<i>Trichoderma</i> sp. 10	1,15 cdef
<i>Trichoderma</i> sp. 06	19,98 cdef	<i>Trichoderma</i> sp. 07	06,04 fgh	<i>Trichoderma</i> sp. 07	1,04 defg
<i>Trichoderma</i> sp. 08	19,08 def	<i>Trichoderma</i> sp. 11	05,83 fgh	<i>Trichoderma</i> sp. 11	0,83 efg
<i>Trichoderma</i> sp. 07	18,55 ef	<i>Trichoderma</i> sp. 08	05,77 fgh	<i>Trichoderma</i> sp. 06	0,72 fg
<i>Trichoderma</i> sp. 10	17,03 f	<i>Trichoderma</i> sp. 12	04,65 gh	<i>Trichoderma</i> sp. 16	0,61 g
<i>Trichoderma</i> sp. 11	16,99 f	<i>Trichoderma</i> sp. 16	04,37 h	<i>Trichoderma</i> sp. 12	0,59 g

CV = 11%

Mesma letra não diferem estatisticamente entre si

CV = 14,49%

CV = 16,37%

Para *Vigna unguiculata*, os isolados de *Trichoderma* promoveram o crescimento das plantas de acordo com as variáveis altura da parte aérea, peso de massa fresca e massa seca, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que o isolado *Trichoderma* sp. 13 (24,48cm) apresentou diferença significativa e negativa quando comparado com o tratamento controle (34,51cm), os demais isolados não diferiram do controle (Tabela 10). O peso de massa fresca das plantas tratadas com *Trichoderma* sp. 10 e *Trichoderma asperelloides* alcançaram 14,66g e 14,07g, respectivamente, diferindo estatisticamente de maneira positiva do controle que teve 10,57g de massa fresca (Tabela 10). Os isolados *Trichoderma* sp. 06, *Trichoderma* sp. 10, *Trichoderma* sp. 16, *Trichoderma* sp. 12 e *Trichoderma* sp. 03, que tiveram como média 3,38g, 3,07g, 2,95g, 2,82g e 2,82g, respectivamente, promoveram um aumento de massa seca das plantas, apresentando diferença do controle, estatisticamente, tendo o tratamento controle uma média de 1,58g de massa seca (Tabela 10).

Silva et. al. (2019) utilizaram uma formulação comercial de *Trichoderma* spp. fornecida pela empresa Biosoja, em dosagens diferentes do produto, afim de promover o crescimento de cultivar de *Vigna unguiculata*. Os resultados foram positivos, tendo destaque no crescimento da parte aérea o grupo que recebeu tratamento nas sementes com a formulação comercial somada à rega desse produto posteriormente, alcançando 124,20cm, enquanto a testemunha estava em 96,10cm. Júnior et. al. (2014) observaram resultados significativos positivos, diferente do que ocorreu neste trabalho com relação ao peso de massa seca de parte aérea, raiz e total em cultivar de *Vigna unguiculata* com a utilização de isolados de *Trichoderma* spp. interagindo com rizóbio.

Tabela 10: Promoção de crescimento em *Vigna unguiculata* com o uso de *Trichoderma* sp. para altura, peso de massa fresca e massa seca.

Variedades	Altura (cm)	<i>Vigna unguiculata</i>			
		Variedades	Peso da massa fresca (g)	Variedades	Peso da massa seca (g)
<i>Trichoderma</i> sp. 16	36,05 a	<i>Trichoderma</i> sp. 10	14,66 a	<i>Trichoderma</i> sp. 06	3,38 a
<i>Trichoderma</i> sp. 12	35,55 a	<i>Trichoderma asperelloides</i>	14,07 ab	<i>Trichoderma</i> sp. 10	3,07 ab
<i>Trichoderma</i> sp. 11	35,04 ab	<i>Trichoderma</i> sp. 16	13,71 abc	<i>Trichoderma</i> sp. 16	2,95 ab
<i>Trichoderma</i> sp. 15	34,85 ab	<i>Trichoderma</i> sp. 06	12,89 abcd	<i>Trichoderma</i> sp. 12	2,82 abc
Controle	34,51 abc	<i>Trichoderma</i> sp. 12	12,68 abcd	<i>Trichoderma</i> sp. 03	2,63 abcd
<i>Trichoderma</i> sp. 10	34,45 abc	<i>Trichoderma</i> sp. 15	10,77 bcde	<i>Trichoderma asperelloides</i>	2,20 bcde
<i>Trichoderma</i> sp. 08	34,38 abc	Controle	10,57 cdef	<i>Trichoderma</i> sp. 08	1,89 cdef
<i>Trichoderma</i> sp. 06	34,20 abc	<i>Trichoderma</i> sp. 08	09,73 defg	<i>Trichoderma</i> sp. 15	1,68 defg
<i>Trichoderma</i> sp. 09	33,73 abcd	<i>Trichoderma</i> sp. 09	09,22 efg	<i>Trichoderma</i> sp. 04	1,60 efgh
<i>Trichoderma</i> sp. 07	32,81 abcd	<i>Trichoderma</i> sp. 11	09,01 efg	Controle	1,58 efgh
<i>Trichoderma</i> sp. 03	32,59 abcd	<i>Trichoderma</i> sp. 04	08,90 efgh	<i>Trichoderma</i> sp. 09	1,54 efghi
<i>Trichoderma</i> sp. 01	31,67 abcd	<i>Trichoderma</i> sp. 03	08,74 efghi	<i>Trichoderma</i> sp. 11	1,31 efghi
<i>Trichoderma</i> sp. 04	31,05 abcd	<i>Trichoderma</i> sp. 02	07,16 fghi	<i>Trichoderma</i> sp. 01	1,23 efghi
<i>Trichoderma asperellum</i>	29,39 abcd	<i>Trichoderma</i> sp. 07	06,69 ghi	<i>Trichoderma asperellum</i>	0,93 fghi
<i>Trichoderma asperelloides</i>	29,28 abcd	<i>Trichoderma</i> sp. 01	06,59 ghi	<i>Trichoderma</i> sp. 07	0,78 ghi
<i>Trichoderma</i> sp. 02	25,25 bcd	<i>Trichoderma</i> sp. 13	06,32 ghi	<i>Trichoderma</i> sp. 13	0,76 ghi
<i>Trichoderma</i> sp. 05	25,30 cd	<i>Trichoderma asperellum</i>	05,53 hi	<i>Trichoderma</i> sp. 05	0,63 hi
<i>Trichoderma</i> sp. 13	24,48 d	<i>Trichoderma</i> sp. 05	05,31 i	<i>Trichoderma</i> sp. 02	0,56 i

CV = 11,53%  
Mesma letra não diferem estatisticamente

CV = 13,89%

CV = 21,98%

## CONCLUSÕES

- A atividade fungitóxica do extrato aquoso de agave sobre de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* não é eficiente na redução do seu crescimento micelial;
- A atividade fungitóxica de extrato hidroalcoólico do agave reduz o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* na concentração de 10%.
- A esporulação dos patógenos não foi afetada pela a ação do extrato de agave aquoso;
- *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* apresenta redução da esporulação quando testado com extrato de agave hidroalcoólico;
- A atividade fungitóxica dos extratos de mastruz aquoso e hidroalcoólico é eficaz no controle *in vitro* da murcha de *Fusarium*, diminuindo o crescimento micelial dos fungos; ;
- A esporulação dos fungos quando tratado com extrato de mastruz aquoso é afetada em baixas concentrações

- O extrato hidoalcoólico do mastruz em *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* 1 e 2 diminuiu a esporulação na concentração de 20%;
- O extrato hidroalcoólico de mastruz é eficiente no controle da esporulação do *F. oxysporum* f. sp. *thacheiphilum*;
- O isolado 13 de *Trichoderma* sp promove o crescimento de plantas de *Phaseolus vulgaris* quando observada a altura da planta;
- Os isolados *Trichoderma* sp. 13, *Trichoderma* 05 e *Trichoderma asperelloides* contribuíram para maior peso de massa fresca em plantas de feijão-comum;
- Plantas de feijão-caupi tratadas com *Trichoderma* sp. 10 e *Trichoderma asperelloides* apresentam melhores valores de peso de massa fresca;
- Os isolados *Trichoderma* sp. 06, *Trichoderma* sp. 10, *Trichoderma* sp. 16, *Trichoderma* sp. 12 e *Trichoderma* sp. 03 aumentam o peso de massa seca das plantas de feijão-caupi tratados;
- Todas as cultivares de feijão-caupi são susceptíveis a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*;
- Oito das dezoito cultivares testadas contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* apresentaram suscetibilidade a esse patógeno, todas crioulas.

## **DIFICULDADES ENCONTRADAS**

A pandemia causada pelo Coronavírus, dificultou o acesso e manutenção dos experimentos, impedindo que o projeto pudesse ter sido executado em sua plenitude. Mesmo com os dois meses de prorrogação para entrega do relatório, não foi possível reparar todas as perdas causadas pelo isolamento social iniciado no mês de março. Em razão disso, os ensaios de biocontrole em casa de vegetação, com as variedades BRS Tumucumaque (feijão-caupi) e Princesa (feijão comum) ainda se encontram instalados, necessitando de cerca de 30 dias para sua conclusão.



## REFERENCIAS

- ALBUQUERQUE, M. P.; COELHO, R. S. B.; PEREZ, J. O. Avaliação de linhagens e cultivares de caupi (*Vigna unguiculata*) em relação a *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*. **Caderno Ômega, Série Agronomia**, n.12, 2001.
- AGUIAR et. al. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. Na promoção de crescimento de mudas do feijoeiro cv. Carioca e controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Ciência e Natura**, vol. 34, p. 47-58. 2012.
- BERNARDO et al. Atividade antibacteriana de plantas medicinais. **Summa Phytopathologica**, v.28, p. 1-10.2002.
- BIAZON, V. L. 2003. Crestamento bacteriano comum do feijoeiro: efeito da adubação nitrogenada e potássica e aspectos relacionados à doença. Dissertação (Mestrado da Faculdade de Ciências Agrônômicas) Universidade Estadual Paulista.
- CARVALHO et al. Biological control of white mold by *Trichoderma harzianum* in common bean under field conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, p.1220-1224. 2015.
- CARVALHO et. al. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, vol. 36, p. 028-034. 2011.
- CAVALCANTI, L. S.; COELHO, R. S. B.;PEREZ, J. O. Utilização de dois métodos de inoculação na avaliação da resistência de cultivares e linhagens de feijoeiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.32, n.1, p.1-5, 2002.
- CAVERO et al. Biological control of banana black Sigatoka disease with *Trichoderma*. **Ciência Rural**, v. 45,p. 951-957. 2015.
- CHAGAS et al. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, v.4, n. 3, p. 97-102, 2017.
- DAVID, N. A. Avaliação do efeito antifúngico de extratos de plantas no controle do *Fusarium oxysporium* f.sp. *cubense* in vitro e em rizomas de *Heliconia* sp. Monografia (Engenheiro Agrônomo). **Universidade Federal do Amazonas, curso de Agronomia**, Humaitá, 2013.
- FONTES, A. C. L. Variabilidade genética e avaliação da inibição dos extratos de plantas medicinais sobre isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Universidade Federal de Pernambuco**. 2012.

FREIRE, et. al. EFEITO DE EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS SOBRE *Lasiodiplodia* sp. 19º Seminário de Iniciação Científica e 3º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 2015.

GHINI, R. KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. EmbrapaMeioAmbiente. 2000.

JÚNIOR et. al. Promoção de crescimento em feijão caupi inoculado com Rizóbio e *Trichoderma* spp. no Cerrado.

KARINE, D. S. et al. Potencial fungicida do extrato etanólico obtidos das sementes de *Pachira aquatica* AUBL. *Fusarium* sp. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas – UFSM.**, v. 36 n.2 mai-ago 2014, p. 114-119.

KHALEDI, N., TAHERI, P. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* against soybean charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina*. **Journal of Plant Protection Research**, v. 56, p. 21. 2016.

MENEZES et al. Variabilidade genética na região ITS do rDNA de isolados de *Trichoderma* spp.(biocontrolador) e *Fusarium oxysporum* f. sp. **ChrysanthemiCiênc. agrotec.**, v. 34, p. 132-139. 2010.

MILANESI et al. Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp e promoção de crescimento em plântulas de soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, p. 347-356. 2013.

MORAIS, M. S.; ARAÚJO, E.; ARAÚJO, A. C. ; BELÉM, L. F. Eficiência dos extratos de alho e agave no controle de *Fusarium oxysporum* S. **Rev. Bras. de Agroecologia**. v.5(2). p.89-98.2010.

NORONHA et. al. Reação de genótipos de feijão-caupi a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, *Rhizoctonia solani* E *Sclerotium rolfsii*. **Congresso nacional de feijão-caupi**, 3. 2013.

OLIVEIRA et al. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, p. 149-155, 2012.

PEDRO et al. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1589-1595. 2012.

SARAVANAKUMAR et al. Effect of *Trichoderma harzianum* on maize rhizospheremicrobiome and biocontrol of *Fusarium* Stalk rot. **Scientific Reports**, v.7. p. 1-13. 2017.

- SALA, G. M.; ITO, M. F.; CARBONELL, S. A. M. Reação de genótipos de feijoeiro comum a quatro raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. ***Summa Phytopathologica***. v.32, n.3, p.286-287, 2006.
- SARTORATO, A. Desafios no controle de doenças na cultura do feijoeiro na região Centro-Oeste. In: ITO, M. F.; Stein, C. P. (Eds.), **VI Seminário sobre pragas, doenças e plantas daninha do feijoeiro**. Campinas(SP), pp.15-17. 2007.
- SILVA et. al. *Trichoderma* sp. como biopromotor do feijão-caupi. **VII Simpósio acadêmico de Agronomia. 2019.**
- SILVA, C. T. B. Estudo dos sistemas produtivos da Cooperativa Agropecuária dos Produtores Familiares Irituienses e o potencial de extratos de plantas medicinais no manejo de pragas e doenças do maracujazeiro. **Revista Cubana de Plantas Medicinalis**, p. 61-74, 2015.
- SILVA et al. Rice sheath blight biocontrol and growth promotion by *Trichoderma isolates* from the Amazon. **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 55, p. 243-250, 2012.
- SILVA et al. Efeito de produtos químicos e de *Trichoderma spp.* no controle de *Fusarium solani* do maracujazeiro. **Interciencia**, v. 39, p. 398- 403. 2014.
- VALADÃO, L. T.; KLAR, A. E. 1996. Evapotranspiração do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em dois níveis do lençol freático. In: **Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem**, Campinas-SP.