

Prospecção de *Aureobasidium pullulans*, Isolado do Bioma Caatinga, no Biocontrole de *Colletotrichum truncatum* em Sementes de Soja

Prospection of *Aureobasidium pullulans*, Isolated from Caatinga Biome, in the Biocontrol of *Colletotrichum truncatum* in Soybean Seeds

Victor Hugo Amorim Nogueira Paranaguá de Carvalho*^a; Helane França Silva^a; Alice Maria Gonçalves Santos^a; Elaine Martins da Costa^a

^aUniversidade Federal do Piauí. PI, Brasil.

*E-mail: victorhnp@gmail.com

Resumo

O fungo *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & W.D. Moore é um importante fitopatógeno em várias culturas de interesse econômico, inclusive na soja (*Glycine max* (L.) Merrill), causando a doença conhecida como antracnose. Apesar do controle químico ser o método de controle mais usado pelos produtores rurais, o controle biológico se apresenta como uma alternativa sustentável para o manejo desta doença. Esta pesquisa avaliou o potencial do fungo *Aureobasidium pullulans* (de Bary & Lowenthal) G. Arnaud, originário do bioma Caatinga, no controle de *C. truncatum*. Foi avaliado o efeito inibitório sobre o crescimento micelial do patógeno a partir de compostos voláteis (*in vitro*), além de testes *in vivo*. Foram analisadas as variáveis germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), massa seca e sanidade das sementes. Nos ensaios *in vitro*, os compostos voláteis produzidos pelo antagonista não apresentaram ação inibitória expressiva a *C. truncatum*. Nos testes *in vivo*, foi observada a ação inibitória de *A. pullulans* a *C. truncatum* em sementes de soja, por meio dos tratamentos preventivo e curativo. O tratamento preventivo proporcionou maior efetividade em relação ao tratamento curativo, evidenciando média superior de IVG (41,84) e menor incidência do patógeno (16,00%). Desse modo, verificam-se as perspectivas do uso de *A. pullulans* no biocontrole de *C. truncatum*, especialmente, quando se realiza o tratamento preventivo. Este é o primeiro relato de *A. pullulans* sobre *C. truncatum*.

Palavras-chave: Antagonismo Microbiano. Controle Biológico. Fungos. Fitopatógeno.

Abstract

The fungus *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & W.D. Moore is an important phytopathogen in several crops of economic interest, including soybean (*Glycine max* (L.) Merrill), causing a disease known as anthracnose. Although chemical control is the most used control method by farmers, biological control presents itself as a sustainable alternative for the management of this disease. This study evaluated the potential of *Aureobasidium pullulans* (de Bary & Lowenthal) G. Arnaud, originating from Caatinga biome vegetation, in the control of *C. truncatum*. The inhibitory effect on the mycelial growth of the pathogen was evaluated from volatile compounds produced by the antagonist (*in vitro*) in addition to the *in vivo* tests. The following variables were analyzed, germination, germination speed index (GSI), dry mass and seed health. In the *in vitro* assays the volatile compounds produced by the antagonist presented no significant inhibitory action against *C. truncatum*. In *in vivo* tests, an inhibitory action of *A. pullulans* and *C. truncatum* was observed in soybean seeds, through preventive and curative treatments. The preventive treatment provided greater effectiveness in relation to the curative treatment, showing higher average of GSI (41.84) and lower incidence of the pathogen (16.00%). Thus, the perspectives of the use of *A. pullulans* in the biocontrol of *C. truncatum* are verified, especially when the preventive treatment is carried out. This is the first report of *A. pullulans* on *C. truncatum*.

Keywords: Microbial Antagonism. Biological Control. Fungi. Phytopathogen.

1 Introdução

O bioma Caatinga tem um rico e vasto patrimônio genético, fator contribuinte para o desenvolvimento de pesquisas (PEREIRA JÚNIOR *et al.*, 2012). Contudo, o aumento contínuo das queimadas e desmatamento de suas áreas para usos agropastoris vem trazendo consequências drásticas à biodiversidade (SOUZA *et al.*, 2015), especialmente de micro-organismos, os quais ainda são considerados pouco conhecidos e estudados. Atrelado a isso, ações antrópicas como o uso irracional de agrotóxicos podem reduzir a população de micro-organismos benéficos e favorecer a maior ocorrência de fitopatógenos, causando desequilíbrio ambiental (MORANDI; BETTIOL, 2009).

Fungos fitopatogênicos como o *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & W.D. Moore pertencem a um gênero

de grande importância econômica, pois causam uma doença conhecida como antracnose, a qual tem alta incidência em plantios monoculturais, como no cultivo da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Esse patógeno possui uma ampla gama de hospedeiros e é transmissível pelas sementes infectadas em um ciclo anterior da cultura, tornando-se a principal fonte de inóculo para as safras subsequentes (MANANDHAR; HARTMAN, 1999).

Na soja, a antracnose causa apodrecimento e queda das folhas e vagens, abertura das vagens imaturas e aumento da germinação dos grãos em formação, além de reduzir a sobrevivência das plântulas (GALLI *et al.*, 2005; BEGUM *et al.*, 2008). Nesse contexto, o uso de fungicidas é uma das ferramentas mais utilizadas no controle de doenças na soja (GARCÉS-FIALLOS, 2011). Assim, Hyakumachi (2013)

destaca a necessidade da redução do uso de agrotóxicos na produção agrícola, principalmente, em função de preocupações crescentes relativas à saúde humana e à segurança ambiental.

Como ação mitigatória se tem buscado alternativas para a redução do uso de agrotóxicos em monoculturas. Nesse sentido, uma das opções mais discutidas para o manejo de doenças é o controle biológico (BRAGA JUNIOR *et al.*, 2017; DI FRANCESCO *et al.*, 2017; BARRATT *et al.*, 2018). Este é apontado como alternativa para sistemas de produção agrícola e florestal, em que a utilização de agentes antagonistas tem possibilitado soluções viáveis no manejo de fitopatologias.

Entre os micro-organismos utilizados como agentes de biocontrole de fitopatógenos se destaca o fungo leveduriforme *Aureobasidium pullulans* (de Bary & Lowenthal) G. Arnaud. Há algum tempo esta espécie tem sido estudada como um biocontrolador em diversas culturas, principalmente, de doenças ocorridas na fase de pós-colheita, como podridões de maçãs e laranjas (BENCHEQROUN *et al.*, 2007; MARI *et al.*, 2012; DI FRANCESCO *et al.*, 2015). Esse potencial está relacionado aos diferentes mecanismos de ação de biocontrole do *A. pullulans*, como produção de compostos orgânicos voláteis, tais como: 2-fenil, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-butanol e 2-metil-1-propanol, os quais desempenham papel essencial na atividade antagonista deste agente biocontrolador contra patógenos (DI FRANCESCO *et al.*, 2015). No entanto, ainda são escassos estudos relacionados à ação de *A. pullulans* sobre *C. truncatum*.

Desse modo, esta pesquisa avaliou o potencial de *A. pullulans*, originária de vegetação do bioma Caatinga, no controle de *C. truncatum* em sementes de soja.

2 Material e Métodos

2.1 Isolamento e identificação do *Aureobasidium pullulans* e do fitopatógeno *Colletotrichum truncatum*

O agente de biocontrole *A. pullulans* foi isolado de folhas da espécie florestal *Combretum glaucocarpum* Mart. em uma área de reserva legal, no Estado do Piauí, com predomínio do bioma Caatinga, situada nas coordenadas geográficas Latitude 8°51'7.48" S e Longitude 44°11'39.95" W. O fitopatógeno *C. truncatum* foi isolado de vagens infectadas de soja, coletadas na Fazenda Progresso, Piauí, mesma mesorregião na qual o isolado de *A. pullulans* foi obtido (Latitude 7°30'14.2" S e Longitude 44°12'34.0" W).

Para o isolamento dos fungos, as folhas coletadas foram cortadas em discos de aproximadamente 0,5 cm. Os fragmentos foliares foram desinfestados em soluções sequenciais de álcool 70%, hipoclorito de sódio 2% e imersão em água esterilizada por três vezes, secos em papel filtro, transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura sólido batata-dextrose-ágar (BDA) e mantidas a 25°C por sete dias. Após o cultivo e purificação das culturas foi realizada a identificação dos fungos. Para tanto, foram montadas lâminas semipermanentes com lactofenol+azul de algodão e PVLG (álcool polivinílico+

lactoglicerol), para observação e mensuração ao microscópio das principais estruturas vegetativas e reprodutivas dos isolados. Em seguida, foi feita a comparação com as descrições presentes em chaves e artigos científicos disponíveis na literatura (COLE; KENDRICK, 1981; BARNETT; HUNTER, 1998). Os isolados de *A. pullulans* (UFPIA01) e *C. truncatum* (UFPIC01) estão armazenados na coleção micológica do Laboratório de Fitopatologia, da Universidade Federal do Piauí, Campus Professora Cinobelina Elvas.

2.2 Efeito inibitório de compostos voláteis de *Aureobasidium pullulans* a *Colletotrichum truncatum* (*in vitro*)

Após sete dias de cultivo em meio BDA, discos das culturas (0,5 cm) dos fungos *C. truncatum* e *A. pullulans* foram colocados no centro de bases de placas de Petri, contendo meio BDA. Após 24h, as bases contendo o patógeno e o antagonista foram sobrepostas e unidas com filme plástico transparente (DENNIS; WEBSTER, 1971). As placas foram incubadas a 25°C com fotoperíodo de 12 h por sete dias, de maneira que as bases superiores fossem as que continham o patógeno. Como controle, sobrepôs-se a placa com o patógeno com uma outra contendo somente o meio BDA. Cada tratamento (antagonista e controle) foi composto por quatro repetições, em duplicatas, utilizando o delineamento inteiramente casualizado. Avaliou-se, diariamente, a partir de 24 horas após a instalação do experimento, o efeito de antibiose de *A. pullulans* sobre o crescimento em diâmetro (mm) das colônias do patógeno, durante sete dias. Os dados foram utilizados no cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial, de acordo com a fórmula descrita por Oliveira (1991):

Em que: IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial; D = diâmetro médio atual da colônia; Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior; N = número de dias após a incubação.

2.3 Inoculação de *Aureobasidium pullulans* e *Colletotrichum truncatum* em sementes de soja (*in vivo*)

Para a realização dos testes *in vivo* foram utilizadas sementes de soja, cultivar 8808 IPRO, Monsoy®, com características moderadamente resistente a *Corynespora cassiicola* (MONSOY, 2018), todavia, suscetível a *C. truncatum*. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições de 25 sementes.

Inicialmente, as sementes foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (NaClO 1%, por dois minutos), lavadas em água destilada esterilizada por três vezes e secas em temperatura ambiente. Foram utilizados dois tratamentos das sementes: o preventivo e o curativo.

Para os ensaios foram utilizadas suspensões de esporos do *A. pullulans* e do *C. truncatum*. Para ambos, a metodologia utilizada foi a de contagem em câmara de Neubauer (hemacitômetro), obtida a partir das culturas puras, ambas com sete dias de crescimento. Foi preparada uma suspensão com

a adição de 20 ml de água destilada esterilizada no interior da placa de Petri. Posteriormente, com o auxílio de escova com cerdas duras foi feita a liberação dos esporos por raspagem das colônias. A suspensão obtida foi filtrada com auxílio de uma peneira fina. A densidade de inóculo foi determinada contando-se o número de esporos contidos em uma gota de volume conhecido, em câmara de Neubauer.

No tratamento preventivo, as sementes de soja foram primeiramente imersas na suspensão de esporos de *A. pullulans*, com concentração ajustada para 10^7 conídios/mL, por cinco minutos. As sementes foram colocadas em bandeja plástica, contendo como substrato duas folhas de papel germitest esterilizado e umedecido em meio BDA [HIMEDIATM] acrescido do soluto manitol [VETECTM] com potencial osmótico ajustado para -1,0Mpa, conforme o software SPM (MICHEL; RADCLIFFE, 1995). Após 48 horas de incubação em câmara de demanda bioquímica de oxigênio a 20°C, as sementes foram imersas na suspensão de esporos do *C. truncatum* a 10^5 conídios/mL.

Para o tratamento curativo, as sementes foram imersas em uma suspensão de esporos de *C. truncatum* a 10^5 conídios/mL durante cinco minutos. Para cada 40 g de sementes foram adicionados 10 mL da suspensão. Em seguida, as sementes foram colocadas em bandeja plástica contendo como substrato duas folhas de papel germitest esterilizado e umedecido em meio BDA [HIMEDIATM] acrescido do soluto manitol [VETECTM] com potencial osmótico ajustado para -1,0Mpa (MICHEL; RADCLIFFE, 1995). Após 48 horas, sementes inoculadas com o patógeno foram imersas na suspensão de esporos do antagonista, seguindo a mesma metodologia supracitada. O controle consistiu em sementes inoculadas apenas com o fitopatógeno. Após as inoculações, as sementes foram mantidas em câmara de demanda bioquímica de oxigênio a 20°C, durante sete dias.

2.4 Germinação, vigor e sanidade de sementes de *Glycine max* tratadas com *Aureobasidium pullulans*

As avaliações da germinação, vigor e sanidade das sementes foram realizadas sete dias após a instalação do experimento. A contagem de sementes germinadas foi feita diariamente, a partir da protusão da radícula. Após a obtenção dos dados diários, foi calculado o índice de velocidade de germinação (IVG), utilizando-se a equação proposta por Maguire (1962): $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$, em que: G=número de sementes normais computadas em cada contagem; N=número de dias da semente até as respectivas contagens.

A incidência de *C. truncatum* nas sementes foi realizada com o auxílio de microscópio estereoscópico e ótico, sendo verificada a presença ou ausência do patógeno em cada semente e os resultados foram expressos em porcentagem de incidência do fitopatógeno. Posteriormente, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa a 60°C, para determinação da massa seca. A pesagem foi realizada em

balança de precisão e os dados expressos em gramas.

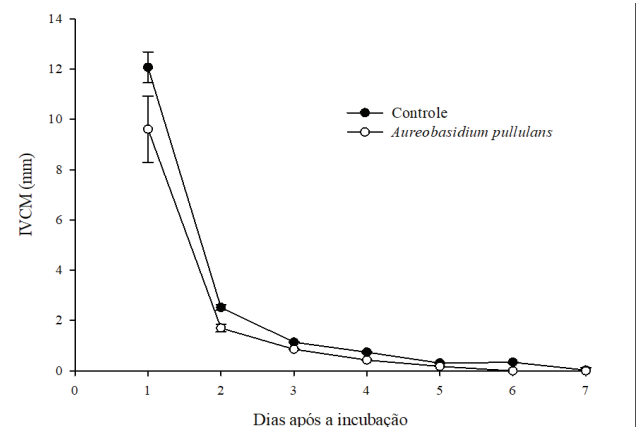
2.5 Análises estatística

Para os dados obtidos no teste *in vitro* foi realizada a análise de variância e a análise de regressão utilizando o programa SigmaPlot 12.5. Os dados dos ensaios *in vivo* foram submetidos à análise de variância e os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, com uso do programa SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2015).

3 Resultados e Discussão

O isolado UFPIA01 de *A. pullulans* não promoveu inibição expressiva do crescimento micelial de *C. truncatum*, quando comparado ao controle ($F = 2,60^{NS}$; $p > 0,05$). No primeiro dia, a média do índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) do tratamento foi de 9,61 mm ($R^2 = 0,84$) e o do controle de 12,07 mm ($R^2 = 0,84$) (Figura 1). Apesar de não acentuado, o efeito antifúngico observado no crescimento micelial do patógeno pode ser atribuído à produção de compostos orgânicos voláteis liberados pelo antagonista. Mari *et al.* (2012) e Di Francesco *et al.* (2015) indicam que um dos principais modos de ação de *A. pullulans* é pela liberação de compostos voláteis, os quais apresentam efeito inibitório sobre vários patógenos.

Figura 1 - Efeito inibitório de compostos voláteis de *Aureobasidium pullulans* sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum truncatum* ($y = 0,5144x^2 - 5,2906x + 12,7$ $R^2 = 0,8359$) e o controle ($y = 0,6332x^2 - 6,5411x + 15,95$ $R^2 = 0,8443$). IVCM - Índice de velocidade do crescimento micelial.



Fonte: Dados da pesquisa.

Em experimento conduzido por Mc Cormark *et al.* (1994), com *A. pullulans* e *Sporobolomyces* sp., foi observado que componentes antibióticos só eram produzidos em condições de estresse, principalmente, por exaustão de nutrientes. Ferraz *et al.* (2016) também verificaram que *A. pullulans* não produziu compostos antifúngicos voláteis em quantidades suficientes para inibir acentuadamente o desenvolvimento do fitopatógeno *Geotrichum citri-aurantii* (Ferraris) E.E. Butler. Aly *et al.* (2010) afirmam que fatores como: luminosidade, temperatura, fontes de carbono e nitrogênio e pH podem interferir na produção e no tipo de compostos voláteis a

serem produzidos pelos agentes de biocontrole. Assim, para trabalhos futuros se destaca a importância da realização de testes *in vitro* em diferentes meios de cultura, temperatura e luminosidade, a fim de analisar a influência destas variáveis no efeito inibitório de *A. pullulans* contra fitopatógenos.

Verificou-se que, no segundo dia, houve redução do crescimento de *C. truncatum* pela ação do biocontrolador. No entanto, esse fato se deve, provavelmente, ao período de adaptação do patógeno ao meio, visto que no controle se observou o mesmo comportamento. Foi constatado, a partir do segundo dia no tratamento com o biocontrolador, redução do *C. truncatum*, possivelmente em decorrência de maior liberação de compostos voláteis produzidos por *A. pullulans*. Observou-se que, no tratamento com o agente antagonista, o crescimento do patógeno foi cessado no sexto dia, enquanto no controle, *C. truncatum* continuou o crescimento até o último dia de incubação, com IVCM de 0,03 mm. Segundo

Freimoser *et al.* (2019), a ação antifúngica de *A. pullulans* envolve, além da produção de compostos voláteis, a produção de enzimas como a quitinase, a qual age na degradação da parede celular de fungos, inibindo o seu crescimento.

Nos testes *in vivo* observou-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos preventivo e curativo em relação ao controle na germinação e massa seca das sementes de soja. Já o índice de velocidade de germinação (IVG) e a incidência do patógeno diferiram significativamente entre os tratamentos, no qual o tratamento preventivo apresentou um maior IVG e uma incidência de *C. truncatum* inferior comparado ao tratamento curativo e ao controle. O tratamento curativo não apresentou diferença estatística em relação ao controle em nenhuma das variáveis analisadas (Quadro 1).

Quadro 1 - Germinação (%), índice de velocidade de germinação (IVG), massa seca (g) e incidência (%) de *Colletotrichum truncatum* em sementes de soja

Tratamentos	Germinação	IVG	Massa Seca	Incidência
Preventivo	99,00±1,85 ^a	41,84±1,36 ^a	3,06±0,16 ^a	16,00±3,77 ^b
Curativo	98,00±2,14 ^a	35,98±1,98 ^b	2,99±0,25 ^a	95,00±3,55 ^a
Controle	98,50±2,07 ^a	33,47±2,99 ^b	3,02±0,30 ^a	98,50±2,07 ^a

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados da pesquisa.

O maior IVG e a menor incidência do fitopatógeno foram verificados no tratamento preventivo, 41,84 e 16,00%, respectivamente (Quadro 1). É importante salientar a expressiva redução da incidência do patógeno nesse tratamento, em que o *A. pullulans* foi inoculado antes do fitopatógeno, como consequência, verificou-se uma maior colonização do antagonista e menores taxas de incidência do *C. truncatum* sobre as sementes. Desse modo, o potencial de inibição do patógeno por *A. pullulans* pode estar relacionado às formas de ação de biocontrole desses fungos, que além da produção de enzimas, na atividade antifúngica, agem a partir da competição por nutrientes (CASTORIA *et al.*, 2001).

Embora no teste de germinação não tenham sido constatadas diferenças entre os tratamentos, foi observado que, no tratamento preventivo, as sementes apresentaram maior vigor. Esse fator pode estar relacionado com a presença de *A. pullulans*, que além de ser indicado como agente de biocontrole, pode também desenvolver a função de promotor de crescimento vegetal, em função de produção de ácido indolacético (AIA), que juntamente com outros fatores, como umidade relativa, luz, temperatura, aspectos nutricionais, nível endógeno de auxinas, apresenta efeitos benéficos na promoção do enraizamento em várias espécies vegetais (SUN *et al.*, 2014). Sendo assim, espécies desse gênero apresentam também potencial para uso como promotores de crescimento de plantas, sendo uma alternativa aos fito-hormônios sintéticos, os quais possuem custos elevados (TSAVKELOVA *et al.*, 2006).

Em pesquisa realizada por Parsa *et al.* (2016) foi constatado

que *A. pullulans* apresenta potencial significativo no aumento do vigor de sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), além de eficiência na redução da incidência de patógenos, como: *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* J.B. Kendr. & W.C. Snyder, *Xylaria* sp. Hill ex Schrank e *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries, enfatizando assim, o potencial desse agente de biocontrole no manejo integrado de doenças de plantas. Desse modo, destaca-se a importância do presente estudo para subsidiar pesquisas futuras relacionadas à utilização de *A. pullulans* no controle de fitopatógenos e na promoção do crescimento de soja e outras espécies vegetais.

4 Conclusão

No teste *in vitro*, o *A. pullulans* não apresentou uma ação antagonista expressiva no crescimento micelial de *C. truncatum*. Todavia, no tratamento preventivo *in vivo* se observou uma relação antagonista do *A. pullulans*, em que o mesmo proporcionou uma redução significativa da incidência do patógeno nas sementes de soja. Assim, destaca-se o potencial deste agente biocontrolador, isolado de fragmentos florestais nativos, no controle biológico de fitopatógenos comumente encontrados na região.

Referências

ALY, A.H. *et al.* Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. *Fungal Divers.*, v.41, n.1, p.1-16, 2010. doi: 10.1007/s13225-

010-0034-4.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. St. Paul: APS Press, 1998.

BARRATT, B.I.P. *et al.* The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. *Bio Control.*, v.63, p.155-167, 2018. doi: 10.1007/s10526-017-9831-y.

BEGUM, M.M. *et al.* Pathogenicity of *Colletotrichum truncatum* and its influence on soybean seed quality. *IJAB*, v.10, n.4, p.393-398, 2008.

BENCHEQROUN, S.K. *et al.* In vitro and in situ study of postharvest apple blue mold biocontrol by *Aureobasidium pullulans*: evidence for the involvement of competition for nutrients. *Postharvest Biol. Tec.*, v.46, p.128-135, 2007. doi: 10.2016/j.postharvbio.2007.05.005.

BRAGA JUNIOR, G.M. *et al.* Controle biológico de fitopatógenos por *Bacillus subtilis* in vitro. *Biota Amazônia*, v.7, n.3, p.45-51, 2017. doi: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n3p45-51.

CASTORIA, R. *et al.* *Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study on its modes of action. *Postharvest Biol. Tec.*, v.22, n.1, p.7-17, 2001. doi: 10.1016/S0925-5214(00)00186-1.

COLE, G.T.; KENDRICK, B. *Biology of conidial fungi*. Nova York: Academic Press, 1981.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: III. Hyphal interaction. *Trans. Bras. Mycol. Soc.*, v.57, n.1, p.363-369, 1971. doi: 10.1016/S0007-1536(71)80050-5.

DI FRANCESCO, A. *et al.* Biocontrol of *Monilinia laxa* by *Aureobasidium pullulans* strains: Insights on competition for nutrients and space. *Int. J. Food Microbiol.*, v.248, n.2, p.32-38, 2017. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.02.007.

DI FRANCESCO, A. *et al.* Production of volatile organic compounds by *Aureobasidium pullulans* as a potential mechanism of action against postharvest fruit pathogens. *Biol. Control*, v.81, p.8-14, 2015. doi: 10.1016/j.biocontrol.2014.10.004.

FERRAZ, L.P. *et al.* Biocontrol ability and putative mode of action of yeasts against *Geotrichum citri-aurantii* in citrus fruit. *Microbiol. Res.*, v.188, p.72-79, 2016. doi: 10.1016/j.micres.2016.04.012.

FERREIRA, D.F. Sisvar. Versão 5.6. Lavras: UFLA/DEX. 2015. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/~danielff/programas/sisvar.html>>. Acesso em: 30 set. 2019.

FREIMOSER, F.M. *et al.* Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, v.35, n.154, p.1-19, 2019. doi: 10.1007/s11274-019-2728-4.

GALLI, J.A. *et al.* Efeito de *Colletotrichum dematium* var. *truncata* e *Cercospora kikuchii* na germinação de sementes de soja. *Rev. Bras. Sementes*, v.27, n.2, p.182-187, 2005. doi: 10.1590/S0101-31222005000200026

GARCÉS-FIALHOS, F.R. A ferrugem asiática da soja causada por *Phakopsora pachyrhizi* Sydow e Sydow. *Ciênc. Tecnol.*, v.2,

n.4, p.45-60, 2011. doi: 10.18779/cyt.v4i2.163

HYAKUMACHI, M. Research on biological control of plant diseases: present state and perspectives. *J. Gen. Plant Pathol.*, v.79, n.6, p.435-440, 2013. doi: 10.3186/jjphytopath.79.123

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.*, v.2, n.1, p.176-177, 1962. doi: 10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x.

MANANDHAR, J.B.; HARTMAN, G.L. Anthracnose. In: HARTMAN, G.L.; SINCLAIR, J.B.; RUPE, J.C. (Ed). *Compendium of soybean diseases*. Saint Paul: APS Press, 1999. p.13-14.

MARI, M. *et al.* Biocontrol of apple postharvest decay by *Aureobasidium pullulans*. *Postharvest Biol. Technol.*, v.73, p.56-62, 2012. doi: 10.1016/j.postharvbio.2012.05.014.

MC CORMACK, P.J.; WILDMAN, H.G.; JEFFRIES, P. Production of antibacterial compound by phylloplane inhabiting yeasts and yeast-like fungi. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.60, n.3, p.927-931, 1994. doi: 10.1128/aem.60.3.927-931.1994.

MICHEL, B.E.; RADCLIFFE, D. A computer program relating solute potential to solution composition for five solutes. *Agron. J.*, v.87, n.1, p.126-130, 1995. doi: 10.2134/agronj1995.00021962008700010022x.

MONSOY. Características cultivar M8808 IPRO. 2018. Disponível em: <http://www.monsoy.com.br/variedades_monsoy/m8808-ipro/>. Acesso em: 20 ago. 2019.

MORANDI, M.A.B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Ed). *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p.7-14.

OLIVEIRA, J.A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.). Lavras: UFLA, 1991.

PARSA, S. *et al.* Fungal endophytes in germinated seeds of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. *Fungal Biol.*, v.120, p.783-790, 2016. doi: 10.1016/j.funbio.2016.01.017.

PEREIRA JÚNIOR, L.R.; ANDRADE, A.P.; ARAÚJO, K.D. Composição florística e fitossociológica de um fragmento de caatinga em Monteiro, PB. *Holos*, v.28, n.2, p.72-84, 2012. doi: 10.15628/holos.2012.1188.

SOUZA, B.I., ARTIGAS, R.C., LIMA, E.R.V. Caatinga e desertificação. *Mercator*, v.14, n.1, p.131-150, 2015. doi: 10.4215/RM2015.1401.0009

SUN, P.F. *et al.* Indole-3-acetic acid-producing yeasts in the phyllosphere of the carnivorous plant *Drosera indica* L. *PLoS One*, v.9, n.12, p.114-196, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0114196.

TSAVKELOVA, E.A. *et al.* Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review. *Appl. Biochem. Microbiol.*, v.42, n.2, p.117-126, 2006. doi: 10.1134/S0003683806020013.