



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
ESCOLA POLITÉCNICA E DE ARTES
CURSO DE AGRONOMIA**

**SELEÇÃO *in vitro* DE ISOLADOS DE *Trichoderma* sp.
ANTAGONISTAS A *Macrophomina* sp., PATÓGENO DO FEIJÃO-
CAUPI**

Felipe Ribeiro Fayad

Goiânia
2025

FELIPE RIBEIRO FAYAD

**SELEÇÃO *in vitro* DE ISOLADOS DE *Trichoderma* sp.
ANTAGONISTAS A *Macrophomina* sp., PATÓGENO DO FEIJÃO-
CAUPI**

Documento apresentado como requisito parcial para composição de média final na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, do curso de graduação em Agronomia, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, PUC-Goiás.

Orientadora: Profa. Dra. Laysla Moraes Coêlho

Coorientadora: Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi

Goiânia

2025

**SELEÇÃO *in vitro* DE ISOLADOS DE *Trichoderma* sp.
ANTAGONISTAS A *Macrophomina* sp., PATÓGENO DO FEIJÃO-
CAUPI**

BANCA EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente
LAYSLA MORAIS COELHO
Data: 04/12/2025 22:28:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª Laysla Moraes Coêlho
Pontifícia Universidade Católica de Goiás



Documento assinado digitalmente
LEANDRA REGINA SEMENSATO
Data: 07/12/2025 19:10:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª Leandra Regina Semensato
Pontifícia Universidade Católica de Goiás



Documento assinado digitalmente
ANA MARIA DA SILVA CURADO LINS
Data: 05/12/2025 08:40:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª Ana Maria da Silva Curado Lins
Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Aprovada em 03/12/2025.

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
3. OBJETIVOS	19
3.1 Geral	19
3.2. Objetivos específicos	19
4. METODOLOGIA	20
4.1. Isolados de <i>Trichoderma</i> sp.....	20
4.2. Preparo do meio de cultura.....	20
4.3. Isolamento e conservação dos isolados de <i>Trichoderma</i> sp.....	21
4.4. Antagonismo <i>in vitro</i>	21
4.5. Análises Estatísticas	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6. CONCLUSÃO	28
7. REFERÊNCIAS.....	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cultivares de feijão-caupi produzidos na Embrapa Meio-Norte, em Teresina – Piauí.....	10
Figura 2. Planta de feijão-caupi cultivar BRS Guirá.....	11
Figura 3. Damping-off no feijão-caupi.	15
Figura 4. Lesão em folha de feijão-caupi ocasionada por <i>Macrophomina phaseolina</i> , com numerosas pontuações pretas, denominadas picnídios.....	16
Figura 5. Placa de petri contendo <i>M. phaseolina</i>	16
Figura 6. Conídios de <i>Trichoderma sp.</i> vistos pelo microscópio.....	18
Figura 7. Preparação do meio de cultura BDA.....	20
Figura 8. Preparação de placas de petri com BDA para repicagem dos isolados.....	21
Figura 9. Realização do antagonismo na câmara de fluxo.....	22
Figura 10. Primeiro dia do experimento.....	23
Figura 11. Experimento após 5 dias de desenvolvimento das colônias.....	23
Figura 12. Redução da área das colônias de <i>M. phaseolina</i> durante o cultivo pareado entre diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> e <i>M. phaseolina</i>	24
Figura 13. Antagonismo do experimento <i>in vitro</i> de cada isolado. Coloração preta representa o crescimento da colônia da <i>Macrophomina phaseolina</i> e as colocações do verde ao laranja representam a colônia dos isolados de <i>Trichoderma sp.</i>	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias da área das colônias de *M. faseolina* que foram medidas com a ajuda de um paquímetro, e porcentagem da área de redução da colônia em relação ao tratamento testemunha (a placa totalmente colonizada pelo patógeno) assim analisando sua eficácia. Resultados de cada isolado do experimento *in vitro*..... 25

**SELEÇÃO *in vitro* DE ISOLADOS DE *Trichoderma* sp.
ANTAGONISTAS A *Macrophomina* sp., PATÓGENO DO FEIJÃO-
CAUPI**

in vitro **SELECTION OF *Trichoderma* sp. ISOLATES ANTAGONISTIC TO
Macrophomina sp., A PATHOGEN OF COWPEA**

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo principal selecionar, em condições de laboratório, isolados do fungo *Trichoderma* sp. que demonstrem alta capacidade antagônica contra o fungo fitopatógeno *Macrophomina phaseolina*, o agente causador da doença podridão cinza que é uma das principais que ataca o feijão-caupi. A metodologia central estabelecida é o método de cultura pareada (ou confronto direto), onde o *Trichoderma* (agente de controle biológico) e a *Macrophomina* (patógeno) são inoculados em lados opostos de uma placa de Petri com meio de cultura, como o BDA (Batata Dextrose Ágar). O sucesso do antagonismo é avaliado pela inibição do crescimento radial do patógeno pela capacidade de antagonica do *Trichoderma*. Tivemos resultados relevantes nos isolados TM44, TM45, TM58, TM15 com mais de 50% de supressão da colônia do patógeno *Macrophomina phaseolina*. A relevância deste estudo residiu em identificar uma alternativa de controle biológico sustentável e ecologicamente correta para o manejo desta doença importante na cultura do feijão-caupi.

Palavras-chaves: *Vigna unguiculata* L.; Controle biológico; Microorganismos; Podridão cinzenta; Manejo integrado de doenças.

ABSTRACT

The main objective of this work is to select, under laboratory conditions, isolates of the fungus *Trichoderma* sp. that demonstrate high antagonistic capacity against the phytopathogenic fungus *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of ash-gray rot disease, which is one of the main diseases affecting cowpea (*Vigna unguiculata* L.). The central methodology established is the dual culture method (or direct confrontation), where *Trichoderma* (the biological control agent) and *Macrophomina* (the pathogen) are inoculated on opposite sides of a Petri dish using a culture medium, such as PDA (Potato Dextrose Agar). The success of the antagonism is evaluated by the inhibition of the pathogen's radial growth due to the antagonistic capability of *Trichoderma*. We obtained relevant results in the isolates TM44, TM45, TM58, and TM15, with more than 50% suppression of the *Macrophomina phaseolina* colony. The relevance of this study lies in identifying a sustainable and ecologically correct biological control alternative for the management of this important disease in cowpea cultivation.

Keywords: *Vigna unguiculata* L.; Biological control; Microorganisms; Charcoal rot; Integrated disease management.

1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi ou feijão de corda (*Vigna unguiculata* L.) é um alimento muito importante na dieta da população rural do país, rico em proteína e vários aminoácidos, sendo muito popular nas regiões norte e nordeste, pela sua rusticidade e fácil adaptação ao clima. O feijão-caupi pode ser consumido de diversas formas: fresco, em conserva ou desidratado (QUEIROZ, 2002).

As principais doenças que causam danos à cultura do feijão-caupi são a murcha de esclerócio ocasionada pelo fungo *Sclerotium rolfsii*, a mela causada por *Rhizoctonia solani* e a podridão cinza causada pela *Macrophomina phaseolina*. O controle dessas doenças é um dos maiores desafios, pois elas afetam tanto a parte aérea quanto as raízes da cultura, impactando diretamente na produção (LINDA et al. 2021).

A *M. phaseolina* pode afetar a produção do feijão-caupi desde sua emergência até a fase de floração. O ambiente mais suscetível para este fungo se proliferar na planta, ao contrário da maioria dos fitopatógenos, é em solo seco e temperaturas altas, sendo as condições ótima para o desenvolvimento do fungo entre 28 e 40 ° C. Para essa planta, em temperaturas a partir de 25 °C, podem ocorrer danos severos (NECHET, 2005).

Com o aumento das doenças que atacam essa leguminosa e um número limitado de agrotóxicos registrados para essa cultura, de acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), uma alternativa mais sustentável e menos agressiva para solucionar esse problema é adotar o controle biológico (SOARES, 2016). Nos últimos anos a visibilidade e o mercado para controle biológico têm crescido significativamente, com um aumento de 45% nos últimos 5 anos, enquanto o mercado de agrotóxicos cresceu apenas 6% no mesmo período (TORDIN, 2024). O uso de agentes biológicos ajuda na formação de boas práticas agrícolas, tornando a produção mais sustentável e auxiliando no equilíbrio do ecossistema local. (EMATER, 2016).

Entre agentes biológicos para o controle biológico utilizados no cultivo de feijão-caupi, os fungos filamentosos se destacam, sendo os do gênero *Trichoderma* sp. os hiperparasitas mais eficientes. Esses fungos possuem ampla diversidade, e atuam por diferentes mecanismos de biocontroles (SILVA, 2000).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) é uma planta considerada resistente à seca original da África, sua introdução no Brasil ocorreu no século XVI por meio de colonizadores portugueses e desde então ganhou importância sobre a dieta alimentar, principalmente na zona rural, obtendo reconhecimento socioeconômico. Como alimento, o feijão-caupi tem grande importância, pois é rico em proteínas, minerais e fibras que são componentes essenciais na alimentação básica da população (MAIA, 2023).

Figura 1: Cultivares de feijão-caupi produzidos na Embrapa Meio-Norte, em Teresina – Piauí.
Fonte. FERNANDES, Luciana.



Apesar da importância econômica do feijão-caupi a tecnologia envolvida em sua plantação ainda é precária, resultando em uma produtividade baixa. Entre os motivos estão, a falta de incentivo em políticas públicas rurais para os produtores para aumentar e melhorar suas áreas de plantio, problemas fitossanitários como a mela (*Rhizoctonia solani*), o oídio (*Erysiphe diffusa*), a murcha de esclerócio (*Sclerotium rolfsii*), e a podridão cinzenta (*Macrophomina phaseolina*), e a falta de assistência técnica e análise de mercado (MOREIRA, et al., 2017).

O feijão-caupi é a segunda espécie de feijão mais cultivada no Brasil, atrás do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). A produção de feijão-caupi ocorre principalmente na primeira (outubro a dezembro) e na segunda (fevereiro a março) safra do ano, sendo que a produção está mais concentrada nas regiões Norte e Nordeste do país, com ascensão na região Centro-Oeste. A segunda safra com plantio sem irrigação, tem início no mês de maio, devido às exigências climáticas, há uma melhor adaptação (EMBRAPA, 2017).

Ademais, a média da produtividade do feijão-caupi no Brasil é superior a 700 kg.ha⁻¹, sendo que a maioria da produção anual advém de três estados (Ceará, Bahia e Piauí) obtida em cultivos de primeira safra (CHEMIM, 2022). Na safra brasileira de 2023/2024 foi registrada a colheita de 462,8 mil toneladas no país. Além do Brasil, a produção dessa leguminosa também é muito representativa na África, sendo os maiores produtores, a Nigéria e o Níger, os quais juntamente com o Brasil, representam 84,1% da área e 70,9% da produção mundial (CONAB, 2024).

O feijão-caupi é uma dicotiledônea da família das Fabaceae, espécie autógama e anual, que se adapta bem em vários climas, além disso, possui um valor produtivo alto, sendo uma cultura importante economicamente e socialmente para o país (BARROS, 2021). O feijão-caupi tem as fases vegetativa e reprodutiva, contudo, mesmo com boa adaptação da espécie para diferentes temperaturas e a baixa exigência hídrica, o tempo para cada fase de desenvolvimento é influenciado pelos fatores da temperatura média e a escolha da cultivar. (FREIRE FILHO, 2011).

Figura 2: Planta de feijão-caupi cultivar BRS Guirá. Fonte: Rosa, Ronaldo.



Essa leguminosa constitui notável fonte de proteínas de (25% em média) e carboidratos, destacando pelo seu alto teor de fibras, minerais e vitaminas além de possuir baixa quantidade lipídica chegando a 2% em média. Sua qualidade nutricional é diretamente influenciada pela sua variedade botânica, qualidade de armazenamento entre outros fatores (EMBRAPA, 2003). O feijão-caupi é uma ótima opção de fonte proteica, sendo um dos principais componentes na dieta de diversas comunidades (IQBAL *et al.*, 2006).

Dentre os fatores que afetam a produção do feijão-caupi, as doenças fúngicas são de grande importância, pois podem ocasionar danos em todas as partes da planta, e prejudicar a produção do grão. Com isso, a rápida detecção no campo é imprescindível para impedir danos severos à produção. Sendo as estratégias de monitoramento e prevenção as mais eficientes para impedir perdas econômicas significativas (BENCHIMOL *et al.*, 2021).

Entre às importantes doenças fúngicas que acometem à cultura do feijão-caupi, no início brotamento floral destacam-se, a mela (*Rhizoctonia solani*), o oídio (*Erysiphe diffusa*), e a murcha de esclerócio (*Sclerotium rolfsii*). No início da maturação fisiológica a podridão cinzenta (*Macrophomina phaseolina*) do caule e a mancha-café representam grande importância, enquanto a podridão das vagens (*Fusarium brasilienses*) e a cercosporiose (*Cercospora longissima*) aparecem principalmente no final do ciclo fisiológico (NECHET, 2005).

Entre essas doenças, que causam danos à produção de feijão-caupi, destaca-se a podridão cinza causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina*, que apesar de ser conhecida como podridão cinzenta do caule, o fungo pode ser encontrado em diversas áreas da planta como em folhas e sementes (NECHET, 2005).

A *Macrophomina phaseolina*, agente etiológico da podridão cinzenta, é particularmente perigosa devido à sua ampla distribuição geográfica e seu comportamento polífago, afetando mais de 500 espécies de plantas cultivadas globalmente. Sua patogenicidade é acentuada pela capacidade de sobreviver no solo por longos períodos, chegando a 15 anos, na forma de microescleródios, que são a principal fonte de infecção. Além disso, a sobrevivência do fungo é favorecida por condições de estresse hídrico e altas temperaturas, com o desenvolvimento ótimo ocorrendo entre 28 °C e 40 °C, o que o torna um problema crescente em regiões mais quentes e secas como o Nordeste

brasileiro, onde o feijão-caupi é um cultivo de grande importância socioeconômica. Essa resiliência e a capacidade de causar danos severos desde a emergência até a floração sublinham a urgência em desenvolver métodos de controle eficazes e sustentáveis. (BENCHIMOL *et al*, 2021).

Esse patógeno é da família da *Botryosphaeriaceae*, se identifica pelas hifas hialinas com paredes finas com tons de marrom contendo septos. O fungo geralmente apresenta bastante diferenciação na cor do micélio, distribuição dos microescleródios, formação de picnídios e fenótipos de clorato entre isolados em meios sintéticos devido a resposta desse fungo a fatores externos do ambiente que se encontra. Os microescleródios são a principal fonte de infecção de *M. phaseolina*.

Quando a infecção ocorre pelas sementes, a planta de feijão-caupi pode apresentar sintomas na pré-emergência, sintomas de damping-off, ou quando sintomas como cancro negro (Nechet; Halfeld-Vieira, 2006). Na planta adulta os sintomas somente são visíveis nos estágios finais, onde há murcha, clorose generalizada com desfolha precoce e por fim morte da planta. (BENCHIMOL *et al*, 2021).

Figura 3: Damping-off no feijão-caupi. Fonte: Cândido Athayde Sobrinho.



Figura 4. Lesão em folha de feijão-caupi ocasionada por *Macrophomina phaseolina*, com numerosas pontuações pretas, denominadas picnídios. Fonte: Nechet *et. al*, 2005.



A *Macrophomina phaseolina* consegue permanecer em estado de dormência no solo por cerca de anos, mesmo quando não há nenhum hospedeiro (NECHET; HALFELD-VIEIRA 2006). Através dos micélios e escleródios presentes nos restos culturais, o inóculo do patógeno se constitui, quebrando sua dormência quando há a presença de um hospedeiro viável e condições favoráveis para o seu desenvolvimento (DHINGRA; SINCLAIR, 1978; BELLÉ; FONTANA, 2018).

Figura 5. Placa de petri contendo *M. faseolina*.



Entre os tipos de controles para combater o patógeno *M. phaseolina*, o controle biológico tem se destacado. O *Trichoderma sp.*, é um fungo antagonista a vários fungos fitopatogênicos, que compete tanto por espaço, quanto por

nutrientes, sendo capaz de formar enzimas que inibem o crescimento do patógeno (BENITEZ, 2004).

De maneira alternativa aos agrotóxicos o controle biológico vem como algo mais sustentável, garantindo o equilíbrio na lavoura. Tendo uma seletividade maior poupando organismos benéficos e tendo uma taxa residual pequena na área onde é aplicado. Esse tipo de controle além de proteger a lavoura de doenças e pragas ajuda a planta alvo em diversas outras maneiras, uma delas é a promoção de crescimento, ajudando no desenvolvimento de raízes (BORGES, Z. S, 2011).

O controle biológico, especialmente com o uso de isolados do gênero *Trichoderma* sp. surge como uma das estratégias mais promissoras para mitigar os danos causados por *M. phaseolina*. Os fungos do gênero *Trichoderma* são conhecidos por sua natureza hiperparasita e antagonista, agindo por meio de diversos mecanismos, incluindo a competição por espaço e nutrientes, e a produção de enzimas que inibem o crescimento de fitopatógenos. A rápida colonização do sistema radicular da planta (rizocompetência) e a promoção do crescimento vegetal são vantagens adicionais que tornam esses agentes de biocontrole altamente valiosos. A busca por isolados adaptados, como os coletados na região Amazônica e utilizados neste estudo, é crucial para garantir a máxima eficácia, oferecendo uma solução robusta e ecologicamente mais segura para a fitossanidade do feijão-caupi (PARRA, 2019).

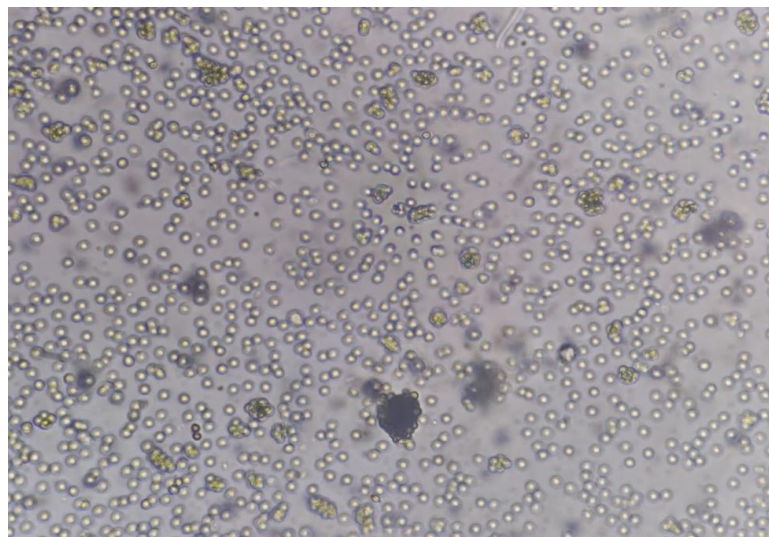
O controle biológico na agricultura brasileira enfrenta diversos desafios regulatórios, de mercado e de adoção que limitam sua expansão. Legalmente, a principal dificuldade é que a regulação ainda está inserida na Lei dos Agrotóxicos, um arcabouço construído para tecnologias químicas que não se adequa totalmente às particularidades dos organismos biológicos. Outro obstáculo é a competitividade econômica, visto que a produção em larga escala nem sempre é viável para que o preço final seja equiparável ao dos agrotóxicos tradicionais. Por fim, a adoção é dificultada pela falta de conhecimento e treinamento dos produtores, que precisam de transferência de tecnologia específica, pois aplicar bioinsumos com a mesma técnica dos produtos químicos pode resultar em eficácia limitada (BETTIOL, W. *et al.* 2014).

O gênero *Trichoderma* engloba diversas linhagens de fungos filamentosos rizocompetentes, presentes em uma ampla gama de

ecossistemas. Esses fungos são predominantemente extraídos de solos florestais ou agrícolas em todas as latitudes e podem ser facilmente cultivados *in vitro*. Eles exibem uma esporulação verde característica, e algumas espécies emitem um cheiro doce ou de 'coco' distinto, devido a um composto volátil biologicamente ativo. A natureza micoparasitária do *Trichoderma* e seu uso potencial como agentes de biocontrole de fungos patogênicos de plantas são reconhecidos há mais de sessenta anos. Várias linhagens de *Trichoderma* foram desenvolvidas como agentes de biocontrole contra doenças de plantas, incluindo algumas que atuam como simbioses oportunistas. Outras linhagens, como o *Trichoderma reesei*, são fungos filamentosos celulolíticos de importância industrial (BROTAMAN *et al.*, 2010).

Trichoderma sp. atua como simbioses oportunistas e avirulentos de plantas, além de estabelecerem uma relação de parasitismo e antagonismo com diversos fungos fitopatogênicos, contribuem para a proteção das plantas contra doenças. Até agora, *Trichoderma sp.* figuram entre os BCAs (Biological Control Agent) fúngicos mais pesquisados e disponibilizados no mercado como biopesticidas, biofertilizantes e agentes de correção de solo (HARMAN *et al.*, 2004). O controle biológico com o agente biológico *Trichoderma sp.* tem inúmeras vantagens, pois colonizam e crescem de forma rápida na planta e tem uma ampla eficácia contra vários patógenos. A diversidade de modos de ação torna difícil para o patógeno reagir, tanto os patógenos de solo quanto os de pós-colheita, ainda mais promovem o crescimento das plantas tornando-as mais resistentes à organismos invasivos (DEISS, F., 2004).

Figura 6: Conídios de *Trichoderma sp.* vistos pelo microscópio.



3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar em laboratório o efeito de isolados de *Trichoderma* sp. no controle da podridão cinza do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), causada pelo patógeno *Macrophomina phaseolina*.

3.2. Objetivo específico

- Identificar e selecionar isolados de *Trichoderma* sp. antagonistas à *M. phaseolina*;
- Determinar a eficiência da ação antagonista dos isolados de *Trichoderma* sp. na supressão à podridão cinzenta (*M. faseolina*).

4. METODOLOGIA

Neste trabalho foram analisados isolados de *Trichoderma* sp. (trichoderma) no controle do patógeno *Macrophomina phaseolina*, que ocasiona a podridão cinza na cultura de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), em ensaio *in vitro*.

4.1. Isolados de *Trichoderma* sp.

Os isolados utilizados foram coletados na região Amazônica e obtidos pela Embrapa Norte. Os onze isolados utilizados foram TM14, TM15, TM26, TM08, TM45, TM58, TM44, TM45, TM64, TM67 e TM63.

4.2. Preparo do meio de cultura

O meio de cultura que usado foi BDA que consiste em Batata, dextrose e ágar. Usou 200g do caldo feito das batatas, 20g de dextrose e 15g de ágar, colocando tudo em um béquer e completamos com 700ml de água deionizada para completar o volume de 1000mL, em seguida, e assim homogeniza a solução. Distribuiu a mistura em frascos Erlenmeyer de 500 mL para facilitar o fracionamento do ágar. Assim foi autoclavado por 20 minutos a 121 graus e depois o deixou esfriar para o uso em local adequado.

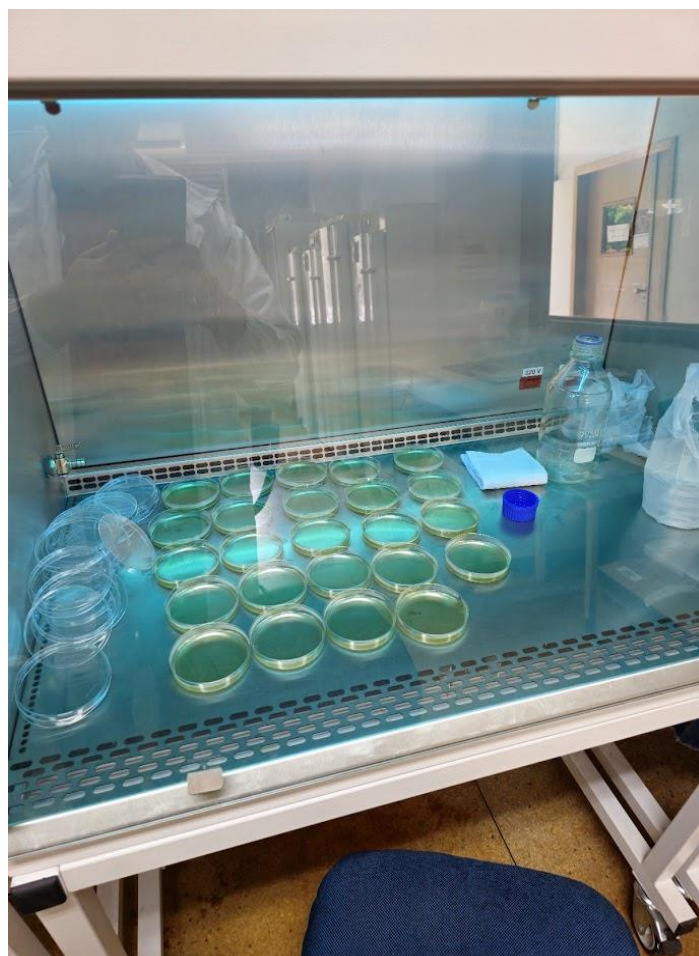
Figura 7: Preparação do meio de cultura BDA.



4.3. Isolamento e conservação dos isolados de *Trichoderma* sp.

Os isolados de *Trichoderma* sp. utilizados pertencem à coleção da Embrapa Amazônia Ocidental. Cada isolado foi cultivado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA. As placas foram vedadas e transferidas para câmara de crescimento durante 5 dias com um fotoperíodo de 12x12 com uma temperatura de 26,7°C.

Figura 8: Preparação de placas de petri com BDA para repicagem dos isolados.



4.4. Antagonismo *in vitro*

Os ensaios foram conduzidos no laboratório de Microbiologia Agrícola da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás, Goiás. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 12 tratamentos (11 isolados de *Trichoderma* sp. e 1 controle, apenas o patógeno), e 4 repetições, totalizando 48

parcelas. Cada parcela foi caracterizada por uma placa Petri. (unidade experimental). O controle foi constituído por uma placa somente com o patógeno.

Segmentos de meio de cultura de 5mm de diâmetro contendo micélio do patógeno (*M. phaseolina*) foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata, dextrose e ágar). Os isolados de *Trichoderma* sp. foram transferidos para a placa de Petri de 90mm e depositados equidistantes do disco de micélio de *M. phaseolina*. O tratamento controle foi constituído apenas pelo patógeno *M. phaseolina*. As placas foram incubadas a 28 °C, durante 5 dias em estufa com fotoperíodo de 12h luz e 12h de escuro.

O crescimento da colônia do patógeno foi mensurado com o auxílio de um paquímetro para o cálculo da área da colônia. Foram medidos os diâmetros das colônias e calculada a área ($A = \pi \cdot r^2$), sendo π uma constante aproximada de 3,14, e r o raio do círculo, para o cálculo do percentual de redução da colônia em comparação com o controle.

Figura 9: Realização do antagonismo na câmara de fluxo.

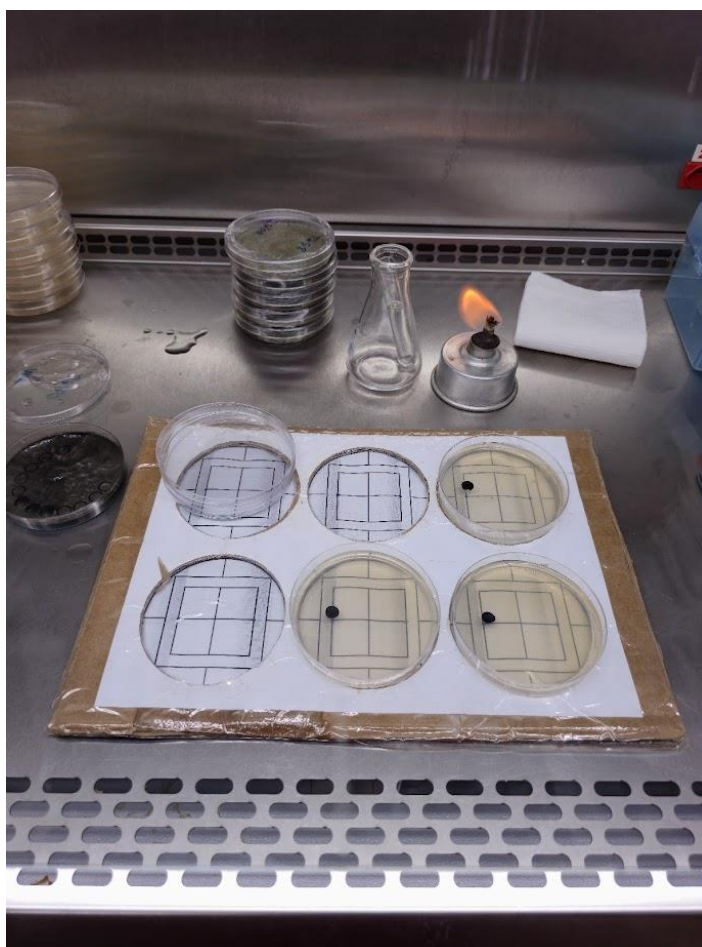


Figura 10: Primeiro dia do experimento.



Figura 11: Experimento após 5 dias de desenvolvimento das colônias.



4.5. Análises Estatísticas

As variáveis analisadas foram submetidas à análise de variância pelo teste F, e nos casos que houve diferença estatística significativa foi realizado um teste de médias pelo método de Tukey ($p < 0,05$) de significância, para identificar o melhor tratamento (isolado de trichoderma) na redução do crescimento das colônias da *M. faseolina*, com o auxílio do software Genes (GENES).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do experimento *in vitro* foram analisados após avaliação aos 5 dias de desenvolvimento das colônias de *M. faseolina*. Os resultados indicaram que os isolados TM67, TM14 e TM42 apresentaram menores reduções das colônias do patógeno com apenas 30,39%, 32,91% e 38,43% de redução, respectivamente. Os isolados TM44, TM45, TM58 e TM15 obtiveram os melhores resultados com redução da colônia de 60,31%, 50,17%, 50,01% e 49,96%, respectivamente (Tabela 1, Figura 6).

Por mais que o TM44 tenha se destacado dos demais, em vistas estatísticas o TM45, TM58, TM15 tem o mesmo grau de significância pois estão no mesmo grupo estatístico como mostra a Tabela 1.

Tabela 1: Médias da área das colônias de *M. faseolina* que foram medidas com a ajuda de um paquímetro, e porcentagem da área de redução da colônia em relação ao tratamento testemunha (a placa totalmente colonizada pelo patógeno) assim analisando sua eficácia. Resultados de cada isolado do experimento *in vitro*. Área da colônia (AC) e Taxa de redução da área da colônia em relação ao controle (TR).

Tratamentos	AC (mm ²)	TR (%)
TM44	2082,58 a	60,31 d
TM45	2614,61 ab	50,17 cd
TM58	2623,016 ab	50,01 cd
TM15	2625,38 ab	49,96 cd
TM08	2708,18 b	48,39 c
TM63	2722,39 b	48,12 c
TM64	2779,21 b	47,037 c
TM26	2993,49 bc	42,95bc
TM42	3230,68 bc	38,43 abc
TM14	3520,15 c	32,91 ab
TM67	3652,62 d	30,39 a

Médias seguidas pelas mesmas letras indicam que não houve diferença estatística significativa pelo teste de Tukey à 5% de significância.

Figura 12: Redução da área das colônias de *M. faseolina* durante o cultivo pareado entre diferentes isolados de *Trichoderma* sp. As letras no topo das barras sinalizam o teste Tukey de comparação de médias de cada tratamento. Tratamentos que possuem letras iguais não tem diferença estatística significativa à 5% de significância.

Redução x Tratamentos

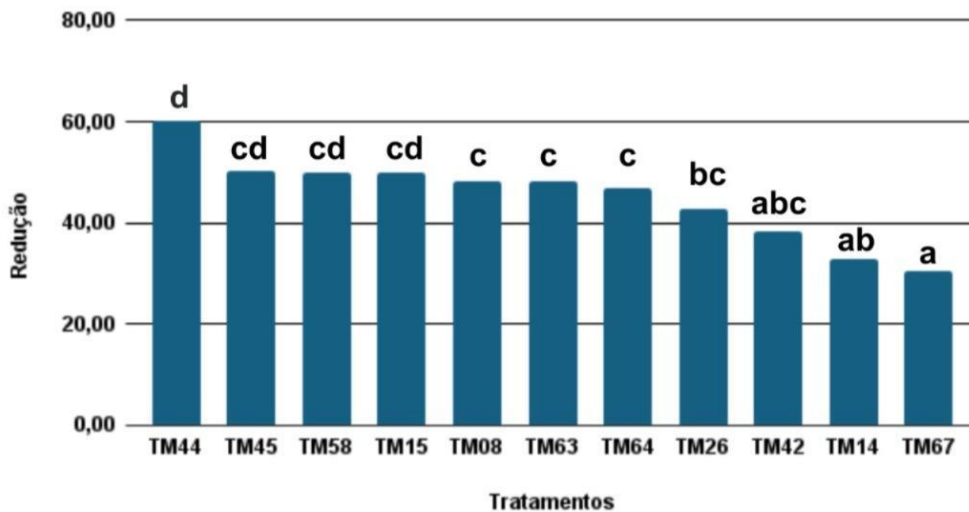
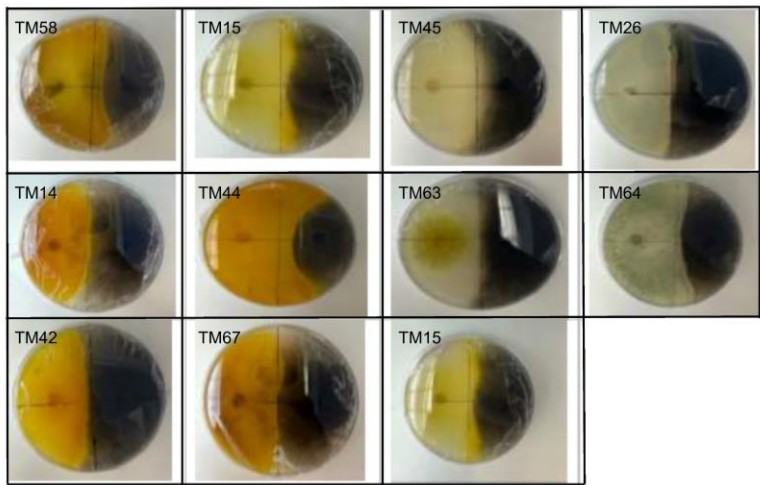


Figura 13: Antagonismo do experimento *in vitro* de cada isolado. Coloração preta representa o crescimento da colônia da *Macrophomina phaseolina* e as colocações do verde ao laranja representam a colônia dos isolados de *Trichoderma* sp.



A observação de efeitos diversos no desenvolvimento do patógeno em contato com diferentes isolados de trichoderma, confirma a variabilidade existente entre os isolados de *Trichoderma* sp. No entanto, os mecanismos envolvidos nesse controle carecem de investigações futuras. A grande eficácia dos isolados TM44, TM58, TM45 e TM15 que alcançaram taxas de redução de 60,32%, 50,17%, 50,01% e 49,96%, respectivamente de controle do crescimento do patógeno ressaltam a importância da prospecção de agentes biológicos adaptados, fornecendo uma solução mais sustentável e eficaz para o controle do patógeno *M. phaseolina*. Mesmo os piores valores analisados na tabela como o TM42 TM14 e TM67 com 38,43%, 32,91% e 30,49% de taxa de redução da colônia do patógeno respectivamente mostra que todos os isolados tiveram resultados relevantes para o objetivo do experimento.

Com a recomendação de estudos complementares, como os ensaios *in vivo*, para validar sua eficácia em condições de casa de vegetação e campo. A identificação e seleção deste isolado promissor contribuem diretamente para o avanço e fortalecimento do Controle Biológico no Brasil, um mercado que tem apresentado um crescimento significativo como uma alternativa menos agressiva e mais sustentável do que o uso dos agrotóxicos tradicionais. O desenvolvimento de um bioinsumo a partir do TM44 representa um passo importante para a segurança alimentar e a sustentabilidade da cultura do feijão-caupi, promovendo maior resiliência das plantas a esse patógeno de difícil manejo, especialmente em cenários de altas temperaturas e estresse hídrico.

6. CONCLUSÃO

O estudo cumpriu seu propósito principal ao avaliar, em condições de cultivo pareado em laboratório, o efeito de supressão de onze isolados de *Trichoderma sp.* na área da colônia do patógeno.

Especificamente, o isolado TM44 obteve a maior supressão, com uma redução de 60,31% na área da colônia do patógeno, seguido por TM45, TM58 e TM15, que alcançaram taxas de redução de 50% ou mais, confirmam o sucesso na prospecção de agentes biológicos e demonstram a variabilidade de eficácia existente entre os isolados de *Trichoderma sp.*

7. REFERÊNCIAS

- BARROS, A. R. J. FEIJÃO-CAUPI: **Parâmetros produtivos, biométricos, fisiológicos, bioquímicos e prospecção de genes, frente ao aumento da temperatura e do déficit hídrico**. 2021. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/224358/1/Feijao-caupi-Parametros-produtivos-biometricos-fisiologicos-2021.pdf>. Acesso em 24 mar. 2025.
- BELLÉ, R. B.; FONTANA, D. C. **Patógenos de solo: principais doenças vasculares e radiculares e formas de controle**. Enciclopédia biosfera, v. 15, n. 28, p. 779-803, 2018.
- BENCHIMOL, L RUTH. et al. **Doenças fúngicas do feijão-caupi no estado do Pará**. 2021. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1137782/1/CirTe c51.pdf>. Acesso em: 28 mar 2025.
- BENÍTEZ, T., Rincón, A.M., Limón, M.C., Codón. A.C. **Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains**. *International Microbiology*, 7(4): 249-260, 2004.
- BETTIOL, W. et al. Controle biológico no Brasil: situação, desafios e oportunidades. 2014. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/19915314.pdf>. Acesso em: 25 set 2025.
- BORGES, Z. S. **Prosa Rural - Benefícios do controle biológico de pragas**. 2011. Disponível em: embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/2378422/prosa-rural--beneficios-do-controle-biologico-de-pragas. Acesso em 22 jun 2025.
- BROTMAN, Y; KAPUGANTI, G, J; VITERBO, A. *Trichoderma*. 2010. Disponível em: [https://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822\(10\)00230-7](https://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822(10)00230-7). Acesso em: 23/09/2025.
- CHEMIM, F. **Cenário brasileiro do feijão-caupi**. 2022. Disponível em: <https://www.ibrafe.org/artigo/cenario-brasileiro-do-feijao-caupi>. Acesso em 14 mar. 2025.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Nova estimativa para a produção de grãos na safra 2023/2024 está em 297,54 milhões de toneladas**. 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5579-nova-estimativa-para-a-producao-de-graos-na-safra-2023-2024-esta-em-297-54-milhoes-de-toneladas>. Acesso em: 11 mar. 2025.
- CLAUDINO, R M. **MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Macrophomina phaseolina* EM MAMONEIRA VISANDO À SELEÇÃO DE GENÓTIPOS RESISTENTES**. 2013. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/969601/1/MONALIZA-ROFRIGUES-CLAUDINO.pdf>. Acesso em 12 mai 2025.
- DEISS, F. **Agentes de biocontrole *Trichoderma*: tipos, usos, modos e seu poderoso impacto**. 2024. Disponível em: <https://sl1nk.com/Ym2ic>. Acesso em 23/09/2025.
- DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Biology and pathology of *Macrophomina phaseolina***. Viçosa: Imprensa Universitária, 1978. 166 p.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **O produtor pergunta, a Embrapa responde.** 2017. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1078096/1/500P500RFeijaoCaupiCap18.pdf>. Acesso em 22 abr 2025.

EMBRAPA MEIO-NORTE. **Cultivo de feijão caupi. Jul/2003** Disponível em: <http://www.cpamn.embrapa.br/pesquisa/graos/FeijaoCaupi/referencias.htm>. Acesso em: 8 set. 2025.

EMATER. BOAS PRÁTICAS AGRÍCOLAS. 2016. Disponível em: <https://biblioteca.emater.df.gov.br/jspui/bitstream/123456789/62/1/Boas%20Pr%C3%A1ticas%20Agr%C3%ADcolas.pdf>. Acesso: 21 out 2025.

FREIRE FILHO, F. R. (Ed.). **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios.** Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011. 84 p.

GENES. **Aplicativo computacional em Genética e Estatística Experimental.**

Disponível em: <https://arquivo.ufv.br/dbg/genes/genes.htm>. Acesso em: 20 jul 2025.

HARMAN, G; HOWELL, R. C; VITERBO, A; CHET, I; LORITO, M. Espécies de Trichoderma - simbiontes vegetais oportunistas e aviculentos. 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15035008/>. Acesso em: 29 jun 2025.

IQBAL, A; KHALIL, A. I; ATEEQ, N; KHAN, S. M. Nutritional quality of important food legumes. **Food Chemistry**, Oxford, v. 97, n. 2, p. 331-335, 2006.

MAIA, R. F. **Produção de feijão-caupi - (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). uma planta resistente à seca é muito comum em regiões do semiárido brasileiro.** 2023. Disponível em: <https://www.periodicojs.com.br/index.php/jid/article/download/1731/1518/5028>. Acesso em 04 abr. 2025.

MARQUEZ, N; GIACHERO, L. M; DECLERCK, S; DUCASSE, D. ***Macrophomina phaseolina*: Características gerais de patogenicidade e métodos de controle.** 2021. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8100579/>. Acesso em: 06 set 2025.

MOREIRA, W. K. O; OLIVEIRA, S. S; ALVES, N. D. J; RIBEIRO, R. A. R; OLIVEIRA, A. I; SOUSA, S. A. L. **EVOLUÇÃO DA PRODUTIVIDADE DO FEIJÃO-CAUPI PARA OS PRINCIPAIS PRODUTORES DO NORDESTE PARAENSE NO PERÍODO DE 2000 A 2014.** 2017. Disponível: <https://doi.org/10.3738/1982.2278.1692> . Acesso em: 23/09/2025.

NECHET, L. K.; Halfeld-Vieira, A, B. **Ocorrência de Fungo *Macrophomina phaseolina* em feijão-caupi no Estado de Roraima.**2005. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/691131/1/cot022005macrophominakatia.pdf>. Acesso em 04 abr. 2025.

PARRA, J. R. P. **Controle Biológico na Agricultura Brasileira.** 2019. Disponível em: <https://l1nq.com/iTFeE>. Acesso em: 23 jun 2025.

QUEIROZ, R. V. **Cultivo do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp).**2002. Disponível em: <https://core.ac.uk/reader/15446650>. Acesso em: 04 abr. 2025.

SILVA, P. R. Q. UnB (Ed). **Transformação de *Trichoderma harzianum* com genes da proteína fluorescente verde e de resistência ao fungicida benomil.** 2000. 397 p.

SILVA, T. J; MELLO, M. S. **Utilização de *Trichoderma* no Controle de Fungos Fitopatogênicos.** 2007. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/189682/4/doc241.pdf>. Acesso em: 04 abr. 2025.

TORDIN, C. **Pesticidas biológicos crescem 45% no Brasil nos últimos cinco anos.** Embrapa, São Paulo, 26 fevereiro de 2024. Disponível em: <https://encurtador.com.br/0N5cO>. Acesso em 24 mar. 2025