



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

TESE

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, TRANSMISSÃO E MANEJO DA ANTRACNOSE
DO FEIJÃO FAVA**

ROMMEL DOS SANTOS SIQUEIRA GOMES

Areia
2019

ROMMEL DOS SANTOS SIQUEIRA GOMES

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, TRANSMISSÃO E MANEJO DA ANTRACNOSE
DO FEIJÃO FAVA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Agronomia – Área de Concentração: Agricultura Tropical.

Orientadora: Prof^a. Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento

**Areia
2019**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

G633a Gomes, Rommel dos Santos Siqueira.

Aspectos epidemiológicos, transmissão e manejo da antracnose do feijão fava / Rommel Dos Santos Siqueira Gomes. - Areia, 2019.
99 f. : il.

Orientação: Luciana Cordeiro do Nascimento.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCA.

1. Atividade enzimática. 2. Colletotrichum truncatum. 3. Indução de resistência. 4. Phaseolus lunatus. 5. Sementes crioulas. I. Nascimento, Luciana Cordeiro do. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, TRANSMISSÃO E MANEJO DA ANTRACNOSE
DO FEIJÃO FAVA

ROMMEL DOS SANTOS SIQUEIRA GOMES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR em AGRONOMIA
(Agricultura Tropical) pela Comissão Examinadora:



Prof. Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento
Orientadora/ PPGA/ CCA/ UFPB



Prof. Dr. Guilherme Silva de Podesta
Examinador - Interno/ DFCA/ CCA/ UFPB



Prof. Dr. Leossavio Cesar de Souza
Examinador - Interno/ DFCA/ CCA/ UFPB



Pesq. Dr. Alderi Emidio de Araujo
Examinador - Externo/ CNPA/ EMBRAPA



Prof. Dr. José George Ferreira de Medeiros
Examinador - Externo/ UATEC/ CDSA/ UFCG

Data de realização: 10 de Dezembro de 2019.

Presidente da Comissão Examinadora
Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento
Orientadora

Aos meus pais, Maria Lina dos Santos e Ronaldo Leite de Siqueira Gomes, pelo amor, apoio e incentivo ao longo do período acadêmico. Sem vocês nada teria sentido. Com todo meu amor

Dedico.

Aos meus queridos irmãos Karen, Ronaldo Júnior e Kriscia e à minha avó, Rosalina, pelo carinho, apoio e amor, e aos demais familiares e amigos que estiveram me apoiando e incentivando nessa fase.

Ofereço.

Ao Deus que eu sirvo, pelo dom da vida, sabedoria, força e coragem para prosseguir, e por me guiar e proteger em todo esse caminho;

À Prof^ª. Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento, pela orientação, paciência e apoio na execução dos meus trabalhos e pelos conhecimentos adquiridos;

Aos Professores Dr. Djail Santos, Dr. Walter Esfrain Pereira e ao pesquisador Dr. João Felinto dos Santos, pelas orientações durante a condução dos experimentos e auxílio na análise de dados;

Agradecimentos especiais também são externados à Edcarlos, Hilderlande, Gabriel, João Victor, Marciano, Rafael, Renan, Renato e Samuel, que gentilmente auxiliaram na condução dos experimentos e aos funcionários e técnicos administrativos Alexandre, Franciscos, Francisca, Genival, Gilvan, Jô e José Thomaz, pelo apoio na condução dos experimentos;

Aos Docentes do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) e Pesquisadores, da Empresa Paraibana de Pesquisa Extensão Rural e Regularização Fundiária (EMPAER PB), sede Lagoa Seca, pelos ensinamentos transmitidos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

A Universidade Federal da Paraíba (UFPB) em nome do Programa de Pós-graduação em Agronomia, pela oportunidade de aperfeiçoamento dos meus estudos;

Aos agricultores que colaboraram com a pesquisa, agradeço a todos em nome de Francisco Galdino da comunidade Galante, Campina Grande e o Val da comunidade Massapê, Queimadas, Estado da Paraíba;

Aos colegas do Laboratório de Fitopatologia (LAFIT), que contribuíram de forma direta ou indireta para a execução dos trabalhos e por todo amor durante esse período de convivência, especialmente pela dedicação;

Aos colegas residentes na república masculina de pós-graduação (casa amarela) da UFPB, Campus II – Areia, pela convivência e aprendizagem compartilhada por todos;

Aos discentes vinculados ao PPGAgro, pela nossa amizade durante o curso de pós-graduação em nível de doutorado turma 2016.1, construída pelo apoio e carinho em que todos os esforços resultaram na superação de todos os obstáculos.

A todos, meu agradecimento!

GOMES, R. dos S. S. **Aspectos epidemiológicos, transmissão e manejo da antracnose do feijão fava**. Areia, Paraíba: Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba. Dezembro. 2019. 104f. Tese (Doutorado em Agronomia) Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

RESUMO GERAL

O feijão fava (*Phaseolus lunatus* L.) é a segunda leguminosa de maior importância do gênero. Um dos problemas que acometem a cultura é a antracnose, uma das principais doenças, frequentemente encontrada em campos de produção, causando redução na produtividade da cultura. O objetivo da pesquisa foi estudar aspectos epidemiológicos e verificar a transmissão do *Colletotrichum truncatum* via sementes e o manejo da antracnose do feijão fava com indutores de resistência sob condições de campo. No primeiro experimento, buscou-se avaliar o progresso temporal da antracnose do feijão fava, a partir da severidade, incidência, índice de doença e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) sob condições de campo e, produtividade do feijão fava. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC), com nove tratamentos, representados pelas variedades crioulas de feijão fava (UFPB02, UFPB 04, UFPB 05, UFPB06, UFPB11, UFPB13, UFPB14, UFPB19 e UFPB20) e nas subparcelas foi avaliada a influência de 7, 14, 21, 28 e 35 dias de avaliação para a severidade e incidência da doença, nos anos 2015 e 2017, com quatro repetições. No segundo experimento, buscou-se comparar métodos de inoculação e tempos de exposição das sementes de feijão fava à *C. truncatum*, avaliando-se a severidade da antracnose em caules, plântulas, índice de doença, AACPD, taxa de transmissão, percentuais de sintomas em folhas, caules e tombamento e, variáveis fisiológicas como altura de plântulas, massa seca de parte aérea, raiz e total e, percentuais de sementes duras e mortas. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 5, com cinco repetições, correspondendo pelos métodos de inoculação por contato direto ao micélio (1), contato direto em restritor hídrico manitol (2), contato direto em restritor hídrico sacarose (3) e imersão em suspensão de conídios (4) e tempos de exposição de 0, 36, 60, 84 e 108 h por método. No terceiro experimento, buscou-se determinar os efeitos de diferentes indutores de resistência no controle de *C. truncatum* em plantas de feijão fava, em duas regiões de cultivo. Utilizando-se também o DBC, com quatorze tratamentos, sendo seis indutores de resistência, manano-oligossacarídeo fosforilado (MOF), acibenzolar-S-metil (SM), biomassa cítrica (BC), fosfito de K (FK), argila silicatada (AS) e

silicato de Ca e Mg (*SCM*), sobre dois tipos de associação, com e sem fungicida carbendazim (*CA*), mais o controle com fungicida *CA* e a testemunha, com quatro repetições e, nas subparcelas foram avaliadas a influência das regiões (*Areia e Lagoa Seca*) de cultivo. Para o primeiro experimento foi possível constatar que houve interação entre variedades e anos de safra, gerando ambientes favoráveis e não favoráveis à incidência da antracnose, sendo possível observar o comportamento das variedades nas safras 2015 e 2017. Foi observada também variabilidade genética entre as variedades crioulas de feijão fava quanto à resistência a *C. truncatum*, onde as variedades UFPB04 e UFPB20 foram consideradas mais resistentes ao patógeno, com aptidão para serem usados em programas de melhoramento genético do feijão fava. Para os resultados do segundo experimento, o método de inoculação por contato direto ao restritor hídrico manitol por 36 h foi o mais adequado para inoculação do *C. truncatum* em sementes de feijão fava, visto que proporcionou uma maior incidência de plântulas infectadas sem interferir nos parâmetros fisiológicos. No entanto, os danos causados por *C. truncatum* no desempenho das sementes de feijão fava, são crescentes com o aumento do tempo de exposição, independentemente do método de inoculação. Com base nos resultados do terceiro experimento os indutores *ASM*, *BC*, *FK*, *AS* e *SCM* com ou sem o fungicida *CA* apresentaram maior potencial para reduzir a antracnose causada por *C. truncatum* em plantas de feijão fava, mostrando os valores mais baixos para área abaixo da curva de progresso da doença e índice de doença, ao longo do período de avaliação. A progressão da doença proporcionou uma mudança de atividade enzimática, onde indutores *ASM*, *BC*, *FK*, *AS* e *SCM* com ou sem o fungicida (*CA*) promoveram as maiores atividades enzimática e índices de troca gasosa em comparação com os outros indutores. O uso de indutores de resistência biótico (*BC*) e abióticos (*ASM*, *FK*, *AS* e *SCM*) apresentaram um alto potencial para o combate da antracnose em plantas de feijão fava, no entanto, os mecanismos de ação diferem entre os diferentes indutores, quando combinados com o fungicida e entre as diferentes regiões de cultivo.

Palavras-chave: Atividade enzimática. *Colletotrichum truncatum*. Indução de resistência. *Phaseolus lunatus*. Sementes crioulas.

GOMES, R. dos S. S. **Epidemiological aspects, transmission and management of lima bean anthracnose**. Areia, Paraíba: Center for Agricultural Sciences, Federal University of Paraíba. Dezembro. 2019. 104f. Thesis (Doctorate in Agronomy) Postgraduate Program in Agronomy.

GENERAL ABSTRACT

The lima beans (*Phaseolus lunatus* L.) is the second most important legumes in the genre. One of the problems that affect the crop is anthracnose, one of the main diseases, often found in production fields, causing a reduction in crop productivity. The objective of the research was to study epidemiological aspects and to verify the transmission of *Colletotrichum truncatum* via seeds and the management of anthracnose of lima beans with resistance inducers under field conditions. In the first experiment, it was evaluate the temporal progress of anthracnose of lima beans from the severity, incidence, disease index and area under the disease progress curve (AUDPC) under field conditions, and the lima bean productivity. The experimental design was a randomized block (DCB) with nine treatments, represented by the traditional varieties of lima beans (UFPB02, UFPB 04 UFPB 05 UFPB06, UFPB11, UFPB13, UFPB14, UFPB19 and UFPB20) and subplots was evaluated influence of 7, 14, 21, 28 and 35 days of evaluation for the severity and incidence of the disease, at 2015 and 2017, with four repetitions. In the second experiment, it was compared methods of inoculation and exposure times of lima bean seeds to *C. truncatum*, evaluating the severity of anthracnose on stems, seedlings, disease index, AUDPC, transmission rate, symptoms of percentage in leaves, stems and tipping and physiological variables such as seedling height, shoot dry weight, root and total and hard and dead seeds percentage. It was used completely randomized factorial 4 x 5, with five repetitions, the methods of inoculation by direct contact the mycelium (1) direct contact with a water mannitol restrictor (2) direct contact with a water sucrose restrictor (3) and immersion in conidia suspension (4) and exposure times of 0, 36, 60, 84 and 108 h per method. In the third experiment, it was determined the effects of different resistance inducers on the control of *C. truncatum* in lima bean plants, in two cultivation regions. Also using DBC, with fourteen treatments, six of which are resistance inducers, phosphorylated mannooligosaccharide (MOF), acibenzolar-S-methyl (SM), citrus biomass (BC), K phosphite (FK), silicate clay (AS) and Ca and Mg silicate (SCM), on two types of association, with and without carbendazim (CA) fungicide, plus the control with fungicide CA and the control, with four replications and, in the subplots, the influence of the regions (Areia and Lagoa Cultivation). For the first experiment,

it was possible to verify that there was an interaction between varieties and crop years, generating favorable and not favorable environments for the incidence of anthracnose, being possible to observe the behavior of the varieties in the years 2015 and 2017. It was also observed genetic variability between the creole varieties of lima beans for resistance to *C. truncatum*, where the varieties UFPB04 and UFPB20 were considered more resistant to the pathogen, with the ability to be used in genetic improvement programs for lima beans. For the results of the second experiment, the method of inoculation by direct contact with the water restrictor mannitol for 36 h was the most suitable for inoculation of *C. truncatum* in lima bean seeds, since it provided a higher incidence of infected seedlings without interfering in the parameters physiological. However, the damage caused by *C. truncatum* on the performance of lima bean seeds, increases with increasing exposure time, regardless of the inoculation method. Based on the results of the third experiment, the ASM, BC, FK, AS and SCM inducers with or without the fungicide CA showed the greatest potential to reduce anthracnose caused by *C. truncatum* in broad bean plants, showing the lowest values for the area below the disease progress curve and disease index over the evaluation period. The progression of the disease provided a change in enzyme activity, where ASM, BC, FK, AS and SCM inducers with or without the fungicide CA promoted the highest enzymatic activities and gas exchange rates compared to the other inducers. The use of biotic resistance (*BC*) and abiotic resistance (*ASM*, *FK*, *AS* and *SCM*) showed a high potential for combating anthracnose in lima bean plants, however, the mechanisms of action differ between the different inductors, when combined with the fungicide and between the different growing regions.

Key words: Enzymatic activity. *Colletotrichum truncatum*. Resistance induction. *Phaseolus lunatus*. Creole seeds.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tab. 1** – Precipitação total (*PPT*), umidades relativa máxima (*URmax*), mínima (*URmin*), temperaturas máxima (*Tmax*) e mínima (*Tmin*) de valores médios semanais registrados durante o período de avaliação da severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), no município de Areia, Paraíba.....27
- Tab. 2** - Área abaixo da curva de progresso da doença (*AACPD*), índice de doença (*ID*) para a antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e produtividade (*PROD*) em variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), nos anos 2015 e 2017, no município de Areia, Paraíba..... 31
- Tab. 3** - Autovetores dos dois componentes principais (*CP1 e CP2*) para as variáveis relacionadas aos aspectos epidemiológicos da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e produtividade das variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), nos anos 2015 e 2017, no município de Areia, Paraíba. 33

CAPÍTULO II

- Tab. 1** - Severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em caules e plântulas de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), aos 3, 6, 9, 12 e 15 dias após a semeadura (DAS).
.....53

CAPÍTULO III

- Tab.1** - Tratamentos à base de indutores de resistência bióticos e abióticos usados no controle da antracnose do feijão fava (*Colletotrichum truncatum*). 76

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Fig. 1** - Severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), nos anos 2015 (a) e 2017 (b), no município de Areia, Paraíba. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente. 29

Fig. 2 - Incidência da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), nos anos 2015 (a) e 2017 (b), no município de Areia, Paraíba. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente. 30

Fig. 3 - Biplot para os escores das variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), nos anos 2015 e 2017 e, para as variáveis relacionadas aos aspectos epidemiológicos da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) dos dois primeiros componentes principais determinados, no município de Areia, Paraíba. ID= índice de doença..... 34

CAPÍTULO II

Fig. 1 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (a), índice de doença (b) e taxa de transmissão (c) em feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), inoculadas com *Colletotrichum truncatum*, por contato direto ao micélio (1), contato direto ao restritor hídrico de manitol (2), contato direto ao restritor hídrico de sacarose (3) e imersão em suspensão de conídios (4), sobre tempos de exposição, aos 15 dias após a semeadura. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente..... 55

Fig. 2 - Percentuais de caules doente (a), folhas doente (b) e tombamento de plântulas (c) de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), inoculadas com *Colletotrichum truncatum*, por contato direto ao micélio (1), contato direto ao restritor hídrico de manitol (2), contato direto ao restritor hídrico de sacarose (3) e imersão em suspensão de conídios (4), sobre tempos de exposição, aos 15 dias após a semeadura. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente. 57

Fig. 3 - Altura de plântula (a), percentuais de sementes duras (b) e sementes mortas (c) de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), inoculadas com *Colletotrichum truncatum*, por contato direto ao micélio (1), contato direto ao restritor hídrico de manitol (2), contato direto ao restritor hídrico de sacarose (3) e imersão em suspensão de conídios (4), sobre tempos de exposição, aos 15 dias após a semeadura. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente. 59

Fig. 4 - Massa seca da parte aérea (MSPA) (a), massa seca da raiz (MSR) (b) e massa seca total (MST) (c) de plântulas de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), inoculadas com *Colletotrichum truncatum*, por contato direto ao micélio (1), contato direto ao restritor hídrico de manitol (2), contato direto ao restritor hídrico de sacarose (3) e imersão em suspensão de conídios (4), sobre tempos de exposição, aos 15 dias após a semeadura. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente..... 61

CAPÍTULO III

Fig. 1- Precipitação total (*PPT*), umidades relativa máxima (*URmax*), mínima (*URmin*), temperaturas máxima (*Tmax*) e mínima (*Tmin*) de valores médios semanais registrados nos municípios de Areia e Lagoa Seca, Paraíba, durante o período de avaliação da severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*)..... 79

Fig. 2 - Área abaixo da curva de progresso da doença (*AACPD*) e Índice de doença (*ID*), causada pelo *Colletotrichum truncatum* em plantas do feijão fava, antes submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (*MOF*), acibenzolar-S-metilico (*ASM*), biomassa cítrica (*BC*), fosfito de K (*FK*), argila silicatada (*AS*), silicato de Ca e Mg (*SCM*), fungicida carbendazim (*CA*) e testemunha (*TE*) apenas água, nos municípios de Areia (a, c) e Lagoa Seca (b, d), Paraíba. 80

Fig. 3 - Atividade das enzimas peroxidase (*POD*), polifenoloxidase (*PPO*) e fenilalanina amônia-liase (*FAL*) em folhas de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*) submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (*MOF*), acibenzolar-S-metilico (*ASM*), biomassa cítrica (*BC*), fosfito de K (*FK*), argila silicatada (*AS*), silicato de Ca e Mg (*SCM*), fungicida carbendazim (*CA*) e testemunha (*TE*), apenas água, nos municípios de Areia (a, c, e) e Lagoa Seca (b, d, f), Paraíba. 82

Fig. 4 - Trocas gasosas de assimilação líquida de CO₂ (*A*) e condutância estomática (*gs*) de plantas de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*) submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (*MOF*), acibenzolar-S-metilico (*ASM*), biomassa cítrica (*BC*), fosfito de K (*FK*), argila silicatada (*AS*), silicato de Ca e Mg (*SCM*), fungicida carbendazim (*CA*) e testemunha (*TE*), apenas água, nos municípios de Areia (a, c) e Lagoa Seca (b, d), Paraíba. 84

Fig. 5 - Transpiração (*E*), temperatura da folha (*T folha*) e eficiência instantânea no uso da água (*EUA*) de plantas do feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*) submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (*MOF*), acibenzolar-S-metilico (*ASM*), biomassa cítrica (*BC*), fosfito de K (*FK*), argila silicatada (*AS*), silicato de Ca e Mg (*SCM*), fungicida carbendazim (*CA*) e testemunha (*TE*), apenas água, nos municípios de Areia (a, c, e) e Lagoa Seca (b, d, f), Paraíba..... 85

Fig. 6 - Eficiência intrínseca do uso da água (*EiUA*) e eficiência instantânea de carboxilação (*EiC*) de plantas de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*) submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (*MOF*), acibenzolar-S-metilico (*ASM*), biomassa cítrica (*BC*), fosfito de K (*FK*), argila silicatada (*AS*), silicato de Ca e Mg (*SCM*), fungicida carbendazim (*CA*) e testemunha (*TE*) apenas água, nos municípios de Areia (a, c) e Lagoa Seca (b, d), Paraíba. 86

Fig. 7 - Produtividade de feijão fava variedade (*Phaseolus lunatus*) submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (*MOF*), acibenzolar-S-metilico (*ASM*), biomassa cítrica (*BC*), fosfito de K (*FK*), argila silicatada (*AS*), silicato de Ca e Mg (*SCM*), fungicida

carbendazim (CA) e testemunha (TE), apenas água, nos municípios de Areia (a) e Lagoa Seca (b), Paraíba..... 87

APÊNDICES

Fig. 1 - Croqui da área experimental de estudo de epidemiologia da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e disposição das variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*) nas parcelas, na fazenda experimental Chã de Jardim, no município de Areia, Paraíba, nos anos 2015 e 2017. T1= UFPB02; T2= UFPB04; T3=UFPB05; T4= UFPB06; T5= UFPB11; T6= UFPB13; T7= UFPB14; T8= UFPB19 e T9= UFPB20..... 94

Fig. 2 - Severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) sob folhas de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), atribuindo-se notas de 0% (a), 0.13% (b), 0.47% (c), 0.64% (d), 1.26% (e), 3.07% (f), 7.53% (g) e 14.81% (h) de área foliar infectada, conforme escala diagramática adaptada de Dalla Pria e Amroim (2010). 95

Fig. 3 - Área experimental de estudo de epidemiologia da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) feijão fava (*Phaseolus lunatus*), plantas em estágio R9 (maturação de grãos), no município de Areia, Paraíba, nos anos 2015 (a) e 2017 (b). 95

Fig. 4 - Severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em caules de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), aos 15 dias após a semeadura, onde: 1 = ausência de sintomas (a); 2 = sintomas de clorose ou necrose, com (b) e sem (c) paralisação do crescimento e 3 = plântulas mortas (d), adaptado de Raoof e Rao (1996). 96

Fig. 5 - Severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em plântulas de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), aos 15 dias após semeadura, onde: 0 = sem sintomas (a); 1 = lesão no coleto de até 1 cm (superficial) (b); 2 = lesão no coleto maior que 1 cm (deprimida) (c); 3 = pontuações, mancha necrótica, lesão no pecíolo (d); 4 = perfurações na folha (e); 5 = morte do meristema apical (f); 6 = plântula em colapso parcial (g) e total (morte) (h), escala de notas adaptada de Souza et al. (2014). 96

Fig. 6 - Croqui da área experimental de estudos de controle da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) do feijão fava (*Phaseolus lunatus*) e disposição dos tratamentos nas parcelas, nas duas regiões de cultivo, municípios Areia e Lagoa Seca, Paraíba, no ano 2017..... 97

Fig. 7 - Área experimental de estudos de controle da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) do feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), plantas em estágio R6 (floração), nos municípios de Areia (a) e Lagoa Seca (b), Paraíba, no ano 2017..... 97

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	16
1.1 Objetivo geral	18
1.1.1 Objetivos específicos	18
REFERÊNCIAS	19
CAPÍTULO I.	22
ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA ANTRACNOSE DO FEIJÃO FAVA EM DIFERENTES VARIEDADES	22
RESUMO	23
ABSTRACT	23
2 INTRODUÇÃO	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Área experimental	25
3.2 Instalação dos experimentos	26
3.3 Definição dos tratamentos	26
3.4 Variáveis analisadas	27
3.5 Análise estatística	28
4 RESULTADOS	28
5 DISCUSSÃO	34
6 AGRADECIMENTOS	41
REFERÊNCIAS	41
CAPÍTULO II	46
TRANSMISSÃO DE <i>Colletotrichum truncatum</i> VIA SEMENTES EM FEIJÃO FAVA 46	
RESUMO	47
ABSTRACT	47
7 INTRODUÇÃO	48
8 MATERIAL E MÉTODOS	49
8.1 Obtenção de isolado e sementes	49
8.2 Definição dos tratamentos	50
8.3 Teste de transmissão do <i>C. truncatum</i>	51

8.4 Teste de qualidade fisiológica.....	52
8.5 Análise estatística	53
9 RESULTADOS	53
9.1 Transmissão do <i>C. truncatum</i>	53
9.2 Qualidade fisiológica	58
10 DISCUSSÃO.....	62
11 AGRADECIMENTOS	66
REFERÊNCIAS.....	67
CAPÍTULO III	71
INDUTORES DE RESISTÊNCIA NO MANEJO DA ANTRACNOSE DO FEIJÃO FAVA	71
RESUMO	72
ABSTRACT.....	72
12 INTRODUÇÃO.....	73
13 MATERIAL E MÉTODOS	75
13.1 Obtenção das sementes	75
13.2 Área experimental	75
13.3 Instalação dos experimentos.....	75
13.4 Definição dos tratamentos	76
13.5 Variáveis analisadas.....	77
13.6 Análise estatística	79
14 RESULTADOS	79
15 DISCUSSÃO.....	87
16 AGRADECIMENTOS	89
REFERÊNCIAS.....	89
17 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	93
APÊNDICES	94
ANEXOS	98
Equação 1: Área abaixo da curva de progresso da doença (<i>AACPD</i>).....	98
Equação 2: Índice de doença (<i>ID</i>)	98
Equação 3: Taxa de transmissão (<i>TT</i>).....	98

1 INTRODUÇÃO GERAL

A espécie *Phaseolus lunatus* L., popularmente conhecida como feijão fava, pertence à família Fabaceae e é uma leguminosa bianual, predominantemente autógama, de alta variabilidade genética e elevado potencial de produção (AZANI et al. 2017). Esta cultura é amplamente cultivada nas regiões tropicais e constitui uma excelente fonte de alimento à população por ser fonte de proteína vegetal, além de renda complementar aos pequenos produtores (SOARES et al., 2010).

Nos Estados Unidos, maior produtor mundial de feijão fava, os grãos são comercializados ainda verdes na forma de conserva, como grãos enlatados e congelados ou empacotados, agregando assim, valor ao produto. No Brasil, o consumo do feijão fava é preferencialmente na forma de grãos secos e cozidos (BITENCOURT; SILVA, 2010). *P. lunatus* é cultivada em diversos estados do Brasil, principalmente na região Nordeste, que juntos correspondem à maior produção nacional. A Paraíba é o segundo maior produtor do Nordeste, que obteve 3.221 t em 2018 de quantidade produzida em grãos, ficando atrás apenas do Ceará com 4.377 t (IBGE, 2019).

Nesta região existe uma grande diversidade de sementes crioulas que podem ser agrupadas de acordo com seu hábito de crescimento (determinado e indeterminado), caracterizadas por apresentar uma ampla variabilidade dos grãos, com realce para o tamanho, peso e cor, e que podem, em certas ocasiões, apresentar diferentes denominações locais e regionais (SÁNCHEZ-NAVARRO et al., 2019). Apesar da elevada diversidade fenotípica observada, no Brasil ainda não existem variedades de fava registradas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (SILVA et al., 2019).

Sob condições edafoclimáticas do Nordeste do Brasil, o feijão fava apresenta exploração comercial dos grãos significativa, devido ao elevado valor comercial dos grãos, comercializados em feiras livres. Nesta região, o cultivo do feijão fava é realizado majoritariamente por agricultores familiares, onde são empregados sistemas de consórcio variados com as culturas, principalmente com a cultura do milho (*Zea mays* L), servindo de tutor para a espécie de hábito de crescimento indeterminado (GOMES; NASCIMENTO, 2018; JESUS et al., 2018).

A produtividade do feijão fava pode ser reduzida devido à ocorrência de pragas e da falta de tecnologias modernas (ASSUNÇÃO et al., 2011). A cultura apresenta baixa produtividade em decorrência dos danos provocados por doenças em campos de produção e à

escassez de pesquisas e atividades de extensão, limitando o conhecimento sobre as características agronômicas e potencialidades da cultura (GOMES et al., 2010).

Entre as doenças, destaca-se a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & W.D. Moore, que é frequentemente encontrado nos plantios de feijão fava do Brasil, especialmente na região Nordeste (BITENCOURT; SILVA, 2010). Os sintomas dessa doença se caracterizam como manchas avermelhadas, inicialmente observadas ao longo das nervuras na face abaxial das folhas, sobre hastes e pecíolos jovens. Nas vagens, as lesões são deprimidas, grandes e avermelhadas, sobre as quais se formam os acérvulos do fungo que se apresentam com aspecto esbranquiçado e com numerosas setas (NOETZOLD et al., 2014).

As sementes podem transportar inóculo do patógeno e dar origem a epidemias em áreas agrícolas, seja na sua superfície, interior ou misturados às mesmas, apresentando-se nas mais variadas formas de propagação, estruturas de resistência específicas dos diversos grupos de fungos, bactérias, nematoides e vírus (SANTOS et al. 2011).

Sabendo que a transmissão de *Colletotrichum* spp., causa várias doenças em leguminosas e, ocorre nas sementes, estas também contribuem para a disseminação em larga escala desses patógenos (MACHADO et al., 2012), a exemplo do *C. truncatum*, transmitido eficientemente em uma taxa acima de 80% em plântulas de feijão fava (MOTA et al., 2018).

A utilização de sementes sadias e o uso de cultivares resistentes tem sido a estratégia mais efetiva para controle de doença de plantas (CIANCHETTA; DAVIS, 2015; ARAÚJO et al., 2016). O uso de cultivares resistentes é um dos métodos de controle de fitopatógenos com resultados mais promissores e de grande importância no manejo integrado de doenças, visto que apresenta reduzido impacto ambiental e baixo custo (COSTA et al., 2009). Apesar disso, poucas pesquisas apontam resistência entre genótipos de feijão fava à antracnose (CAVALCANTE et al., 2012; SANTOS et al., 2015).

O controle químico, normalmente tem sido a principal estratégia utilizada no tratamento de doenças de plantas (DOMENE et al., 2016), porém, no controle do *C. truncatum*, são indicados apenas os produtos Tiofanato-metílico para o feijão vagem [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] e Carbendazim para o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Não existem produtos registrados para a antracnose em feijão fava (AGROFIT, 2016)

A procura por métodos alternativos tem recebido atenção mundial, por causarem menos impacto ao meio ambiente em decorrência de sua origem, sejam estes provenientes de fonte natural, como os extratos vegetais e os óleos essenciais, por meios de tratamentos assépticos (PINHEIRO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017).

Tais alternativas de controle devem ser estudadas a fim de promover a redução da intensidade de doenças nas plantas cultivadas. Frente às alternativas de manejo de doença, têm-se o uso de indutores de resistência de plantas, que se vislumbra exitosa por ser uma ferramenta efetiva contra diversos patógenos (DAROLT, 2016). Esse manejo pode ser adotado também no manejo da antracnose do feijão fava.

Diversos produtos contendo moléculas indutoras de resistência ou análogas já foram desenvolvidos, tais como: Agro-mos[®], Bion[®], Ecolife[®] e outros constituídos de Silício (Si), como Agrosilício Plus[®] e Rocksil[®], estão sendo estudados (JUNQUEIRA et al., 2011; GOMES; NASCIMENTO, 2018). Eles atuam proporcionando rápida assimilação de nutrientes disponíveis, aumentando a produção de massa vegetal e dessa forma incrementam a resistência da planta aos patógenos (TECNOBIOL, 2005).

Contudo, por mais que se conheçam os efeitos da indução de resistência em algumas doenças de cultura agrícola, bem como a antracnose do feijão comum [*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara, essas pesquisas ainda são incipientes para antracnose do feijão fava.

1.1 Objetivo geral

- Estudar aspectos epidemiológicos de *C. truncatum*, verificar a transmissão via sementes e o manejo da antracnose do feijão fava com indutores de resistência.

1.1.1 Objetivos específicos

- Verificar o progresso da antracnose em variedades crioulas de feijão fava;
- Comparar métodos de inoculação para a transmissão de *C. truncatum* via sementes de feijão fava;
- Determinar a eficiência de indutores de resistência no manejo da antracnose do feijão fava.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, D. V.; MACHADO, J. C.; PEDROZO, R.; PFENNING, L. H.; KAWASAKI, V. H.; MACHADO NETO A.; PIZATTO J. A. Transmission and effects of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* on cotton seeds. **African Journal of Agricultural**, v. 11, n. 20, p. 1815-1823. 2016.
- ASSUNÇÃO, I. P.; NASCIMENTO, L. D.; FERREIRA, M. F.; OLIVEIRA, F. J.; MICHEREFF, S. J.; LIMA, G. S. A. Reaction of faba bean genotypes to *Rhizoctonia solania* nd resistance stability. **Horticultura Brasileira**. v. 29, p. 492-497, 2011.
- AZANI, N.; BABINEAU, M.; BAILEY, C. D.; BANKS, H.; BARBOSA, A. R. et al. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). **Taxon**, v. 66, n. 1, p. 44-77. 2017.
- BITENCOURT, N. A.; SILVA, G. S. Reação de Genótipos de feijão fava a *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii*. **Nematologia Brasileira**. v. 34, p. 184 -186, 2010.
- CAVALCANTE, G. R. S.; CARVALHO, E. M. S.; GOMES, R. L. F.; SANTOS, A. R. B.; SANTOS, C. M. P. M. Reação de subamostras de feijão fava à Antracnose. **Summa Phytopathologica**, v. 38, p. 329-333. 2012.
- CIANCHETTA, A. N.; DAVIS, R. M. *Fusarium* wilt of cotton: Management strategies. **Crop Protection**, v. 73, p. 40-44, 2015.
- COSTA, I. F. D.; BALARDIN, R. S.; MEDEIROS, L. A. M.; LENZ, G.; GULART, C. A.; ZEMOLIN, C. R.; SILVA, T. M. B. Reação de germoplasma comercial de soja a *Colletotrichum truncatum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, p. 47-50, 2009.
- DAROLT, J. C. Expressão gênica em laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck) em resposta à aplicação de acibenzolar-s-metílico e à infecção por *Camdidatus Liberibacter asiaticus*. 2016. 152f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.
- DOMENE, M. P.; GLORIA, E. M.; BIAGI, J.; BENEDETTI, B. C.; MARTINS, L. Efeito do tratamento com óleos essenciais sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de milho (*Zea mays*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-6, 2016.
- GOMES, O. S.; REI, R. L. R.; CARMO, M. D. S.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A. Avaliação de componentes de produtividade de grãos em subamostras de feijão fava de crescimento determinado. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**. v. 7, p. 312-317, 2010.

- GOMES, R. S. S.; NASCIMENTO, L. C. Induction of resistance to *Colletotrichum truncatum* in lima bean. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85. 2018.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Banco de dados agregados: pesquisas: Pesquisa agrícola municipal. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1612#resultado>, Acesso em 22 de Out. 2019.
- JESUS, L. G. A.; TAVARES, L. R.; GOMES, M. F. C.; VALENTE, S. E. S.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; COSTA, M. F. Eficiência de testes colorimétricos para determinação da viabilidade do pólen em acessos de feijão fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 59-64. 2018.
- JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; UESUGI, C. H.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BELLON, G.; SANTOS, E. C.; RAMOS, L. N. Desempenho agrônômico de maracujazeiros tratados com produtos alternativos e fertilizantes foliares. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 33, n. 1, p. 40-47. 2011.
- MACHADO, J. C.; BARROCAS, E. N.; GUIMARÃES, R. M.; MACHADO, C. F. Uso da técnica de restrição hídrica ou condicionamento osmótico em patologia de sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 20, n. 1, p. 37-63, 2012.
- MOTA, J. M. D.; MELO, M. P. D.; GARCÍA, M. E. M.; SOUSA, E. S.; SOUSA, E. M. D. J.; BARGUIL, B. M.; BESERRA JUNIOR, J. E. A. Transmission of *Colletotrichum truncatum* and *Macrophomina phaseolina* by lima bean seeds. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 1, p. 33-37. 2018.
- NOETZOLD, R.; ALVES, M. C.; CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A. Q. Variabilidade espacial de *Colletotrichum truncatum* em campo de soja sob três níveis de sanidade de sementes. **Summa Phytopathologica**. v. 40, p. 16-23, 2014.
- OLIVEIRA, J. S. B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONATO, C. M.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Homeopatas de óleos essenciais sobre a germinação de esporos e indução de fitoalexinas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 48, n. 1, p. 208, 2017.
- PINHEIRO, C. G.; LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M. F. B.; REDIN, C. G.; SANTOS, M. V. Efeito da assepsia superficial na germinação e incidência de fungos em sementes de espécies florestais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 36, n. 87, p. 253-260, 2016.
- SÁNCHEZ-NAVARRO, V.; ZORNOZA, R.; FAZ, Á.; FERNÁNDEZ, J. A. Comparing legumes for use in multiple cropping to enhance soil organic carbon, soil fertility, aggregates stability and vegetables yields under semi-arid conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 246, n. 27, p. 835-841. 2019.

- SANTOS, A. F.; PARISI, J. J. D.; MENTEM, J. O. M. (Eds.) **Patologia de sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas. 2011. 236 p.
- SANTOS, A. R. B.; SIMEÃO, M.; BARROS, P. S.; CAVALCANTE, G. R. S.; CARVALHO, E. M. S. Seleção de subamostras de feijão fava para resistência à Antracnose. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 9, p. 268-278, 2015.
- SILVA, S. I. A., SOUZA, T., SANTOS, D.; SILVA SOUZA, R. F. Da. Avaliação dos componentes de produção em variedades crioulas de fava cultivadas no Agreste da Paraíba. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 3, 731-742. 2019.
- SOARES, C. A.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; GÂNDARA, F. C. Aspectos socioeconômicos. In: LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, A. S. F. (Orgs.) **A cultura do feijão fava no Meio Norte do Brasil**. Teresina: EDUFPI, 2010. p. 237-263.
- TECNOBIOL S.A. Fertilizantes do Brasil. Departamento Técnico/Comercial. Boletim Técnico Ergofito. 2005. 5p.

CAPÍTULO I.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA ANTRACNOSE DO FEIJÃO FAVA EM DIFERENTES VARIEDADES

Aspectos epidemiológicos da antracnose do feijão fava em diferentes variedades

RESUMO

A antracnose do feijão fava, causada por *Colletotrichum truncatum* pode causar severas perdas na produção. Embora existam dificuldades no controle do patógeno, os estudos de manejo estão direcionados ao princípio da resistência genética, através de variedades locais, com potencial de alta resistência genética ao patógeno. O objetivo do trabalho foi avaliar o progresso temporal da antracnose em variedades de feijão fava, sob condições de campo. Os experimentos foram realizados na fazenda experimental Chã de Jardim, da Universidade Federal da Paraíba, em Areia, sob condições de campo em 2015 e 2017. Foram testadas nove variedades crioulas de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), representadas por UFPB02, UFPB04, UFPB05, UFPB06, UFPB11, UFPB13, UFPB14, UFPB19 e UFPB20 em intervalos de sete dias, para determinar a incidência e a severidade, considerando a ocorrência natural de antracnose nas plantas. Com base na escala de notas de severidade foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença e o índice de doença, além do componente de produtividade da cultura. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro repetições. Há interação entre variedades e anos de safra, gerando ambientes favoráveis e não favoráveis à incidência da antracnose, sendo possível observar o comportamento das variedades em duas safras. Foi observada variabilidade genética entre as variedades crioulas de feijão fava quanto à resistência a *C. truncatum*, onde UFPB04 e UFPB20 foram consideradas mais resistentes ao patógeno e com aptidão para serem usadas em programas de melhoramento genético.

Palavras chave: *Colletotrichum truncatum*. *Phaseolus lunatus*. Progresso temporal. Variedades crioulas.

Epidemiological aspects of lima bean anthracnose in different varieties

ABSTRACT

Anthracnose lima bean, caused by *Colletotrichum truncatum* can cause severe losses in production. Although there are difficulties in controlling the pathogen, management studies are directed to the principle of genetic resistance through local varieties with potential for high genetic resistance to the pathogen. The objective of this work was to evaluate the temporal

progress of lima bean anthracnose under field conditions. The experiments were carried out in the experimental farm Chã de Jardim, Federal University of Paraíba, Areia, Brazil, under field conditions in 2015 and 2017. Nine creole varieties of lima bean (*Phaseolus lunatus*) represented by UFPB02, UFPB04, UFPB05, UFPB06, UFPB11, UFPB13, UFPB14, UFPB19 and UFPB20, were tested at seven day intervals to determine incidence and severity, considering the natural occurrence of anthracnose in plants. Based on the severity scale of notes 1 to 7 was calculated area under the curve anthracnose progress and disease index beyond the component crop productivity. The experimental design used was randomized blocks with three replications. At the end of the experiments was found that there is interaction between local varieties and environments, creating favorable and unfavorable environments to the incidence of anthracnose, and you can observe the behavior of varieties at different two harvest. Genetic variability among fava bean varieties was observed regarding resistance to *C. truncatum*, where the UFPB04 and UFPB20 varieties were considered more resistant to the pathogen and able to be used in breeding programs.

Key words: *Colletotrichum truncatum*. *Phaseolus lunatus*. Temporal progress. Creole varieties.

2 INTRODUÇÃO

A ocorrência de *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & Moore, agente causal da antracnose do feijão fava (*Phaseolus lunatus* L.), somente foi relatada no Brasil em 1992, apresentando sintomas semelhantes a antracnose na cultura em Viçosa, no Estado de Minas Gerais. Posteriormente, esse patógeno foi constatado em plantios no Nordeste do Brasil. A antracnose, destaca-se entre as doenças fúngicas que tem prejudicado grandemente a cultura do feijão fava, causando grandes perdas na produção e qualidade de vagens e, assim, prejudicando a comercialização (Damm et al. 2009).

Em *P. lunatus*, a antracnose apresenta sintomas que se caracterizam como manchas avermelhadas na face abaxial das folhas, inicialmente observadas ao longo das nervuras, e sobre hastes e pecíolos jovens. Nas vagens, as lesões são deprimidas, grandes e avermelhadas, sobre as quais se formam os acérvulos do *C. truncatum*, com aspecto de uma massa esbranquiçada, de onde saem numerosas setas (Noetzold et al. 2014).

O uso de cultivares resistentes é um dos métodos de controle de fitopatógenos com resultados mais promissores e de grande importância no manejo integrado de doenças, visto que apresenta reduzido impacto ambiental e baixo custo (Costa et al. 2009). Apesar disso,

poucas pesquisas apontam resistência entre variedades de feijão fava à antracnose (Cavalcante et al. 2012; Santos et al. 2015).

A partir das sementes crioulas e de sua diversidade, é gerada uma riqueza de conhecimentos para as mais variadas estratégias de uso e manejo, tais como nos hábitos alimentares, na estocagem de forragem, no acesso aos mercados, no uso fitoterápico e em outras habilidades do povo sertanejo, que resultam na origem de um material de ampla adaptação aos mais diferentes ambientes (Santos et al., 2019).

Todavia a variabilidade genética está sob constante processo de seleção nos ambientes onde são cultivados, e o cultivo intensivo com emprego de poucos cultivares que constitui uma exigência de mercado da agricultura moderna, contribui para a redução da variabilidade genética (Tsutsumi et al., 2015).

A espécie *P. lunatus* apresenta elevada diversidade genética, o que permite um alto potencial de produção e adaptação a diferentes condições climáticas, chegando a ser considerada tolerante à seca, ao excesso de umidade e ao calor (Long et al., 2014). Na região Nordeste do Brasil, existe uma grande diversidade de variedades crioulas que podem ser agrupadas, a partir do seu hábito de crescimento (determinado e indeterminado), ampla variabilidade dos grãos com realce para o tamanho, peso e cor, como também podem, em certas ocasiões, apresentar diferentes denominações locais e regionais (Sánchez-Navarro et al., 2019).

Contudo, apesar da elevada diversidade fenotípica observada nesta cultura, no Brasil ainda não existem variedades de fava registradas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo exclusivamente cultivadas sementes de variedades crioulas (Silva et al. 2019).

Em vista da importância da antracnose no feijão fava, ainda não existem estudos envolvendo a epidemiologia dessa doença. Portanto, o trabalho teve como objetivo analisar o progresso da doença em diferentes variedades crioulas de feijão fava, na microrregião do Brejo da Paraíba.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área experimental

Os experimentos foram conduzidos em regime de sequeiro, sob condições de campo nos anos 2015 e 2017, em área experimental localizada em latitude de 6°58'8" S, longitude de 35°42'15"W e altitude de 620 metros acima do nível do mar, no município de Areia, PB. De acordo com a classificação de Köppen e Geiger (1936) a área cultivada apresenta clima quente

e úmido, do tipo As', com temperatura média anual de 24 °C, com umidade relativa média em torno de 80% e precipitação média anual de 1.400 mm (Guedes Filho et al. 2011). O solo da área experimental é classificado como Neossolo Regolítico (Embrapa 2013).

3.2 Instalação dos experimentos

No primeiro experimento (2015) a análise de características de fertilidade da amostra do solo na área experimental foi coletada a uma profundidade de 0 a 20 cm, utilizada antes da semeadura, repedindo tais procedimentos para a mesma análise no segundo experimento (2017). Antes da implantação dos experimentos, realizou-se a correção e adubação do solo, conforme a recomendação de Cavalcanti (2008), considerando-se os valores encontrados nas análises de fertilidade do solo. Os experimentos foram conduzidos em regime de sequeiro, sob condições de campo entre maio a dezembro nas safras de 2015 e 2017.

3.3 Definição dos tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas no tempo, com quatro repetições. Nas parcelas principais, foram avaliadas nove variedades crioulas de feijão fava: UFPB02, UFPB04, UFPB05, UFPB06, UFPB11, UFPB13, UFPB14, UFPB19 e UFPB20, oriundas de áreas de cultivo no Estado da Paraíba, com hábito de crescimento indeterminado, exceto as variedades UFPB04 e UFPB14, que são do tipo determinado (Gomes e Nascimento, 2018) e, nas subparcelas, foram avaliados cinco períodos de avaliação para determinação da severidade da antracnose.

As avaliações de severidade da antracnose, ocorreram em dois experimentos, compreendendo-se duas safras (2015 e 2017). A semeadura foi realizada manualmente, sendo que cada unidade experimental continha 12 m² (3 m x 4 m), dividida em 4 linhas com espaçamento de 1 m entre linhas e 0.5 m entre plantas, contendo um total de 24 plantas por parcela.

Antes da semeadura, procedeu-se a abertura das covas para realização da semeadura manual com quatro sementes cova⁻¹, permanecendo apenas duas plantas por cova, após a emergência. Foram utilizadas varas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) como tutor para as plantas com hábito de crescimento indeterminado. O controle de plantas daninhas foi feito através de capinas manuais, durante o período de avaliação dos experimentos.

3.4 Variáveis analisadas

A **severidade da doença** foi avaliada a cada sete dias, tomando como base duas folhas de cada região dos terços superior, médio e inferior da planta, atribuindo-se notas de 0, 0.13, 0.47, 0.64, 1.26, 3.07, 7.53 e 14.81% da área foliar infectada, conforme escala diagramática adaptada de Dalla Pria e Amorim (2010). Em seguida, feito o cálculo da **Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença**, para cada repetição, conforme Campbell e Madden (1990) e, de posse dos valores de severidade foi feito o cálculo do **Índice de doença**, de acordo com Erkilic et al. (2006). A incidência da doença foi avaliada aos 7, 21 e 35 dias durante a avaliação da severidade da antracnose, considerando-se a presença ou ausência da doença em cada planta das variedades testadas, sendo quantificado o percentual de plantas doentes.

A **produtividade** foi determinada ao final do ciclo da cultura a partir da média obtida para as nove variedades de feijão fava por meio da colheita de grãos secos na área útil de cada parcela, corrigindo a umidade para 13% e expressa em kg ha⁻¹.

Os dados meteorológicos de **precipitação, umidades relativa do ar e temperaturas**, referentes aos períodos de avaliação da severidade da doença foram obtidos pela Estação OMM: 81877, Areia-A310, pertencente ao Instituto Nacional de Meteorologia.

Os dados referentes a precipitação total, umidades relativa máxima e mínima e, de temperatura máxima e mínima, foram obtidos durante os períodos de avaliação da severidade da antracnose do feijão fava, revelaram uma clara distinção entre as safras 2015 e 2017 em mesma área experimental (Tab. 1).

Tab. 1 – Precipitação total (*PPT*), umidades relativa máxima (*URmax*), mínima (*URmin*), temperaturas máxima (*Tmax*) e mínima (*Tmin*) de valores médios semanais registrados durante o período de avaliação da severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), no município de Areia, Paraíba.

Avaliações	PPT	URmax	URmin	Tmax	Tmin
1º experimento	mm	-----%-----		-----°C-----	
23/07/2015	125.2	96.8	93.9	20.1	19.3
30/07/2015	109.8	95.8	93.4	20.1	19.4
06/08/2015	36.0	91.3	87.3	20.5	19.6
13/08/2015	15.2	90.7	86.5	20.5	19.6
20/08/2015	19.0	91.6	87.5	20.6	19.8
2º experimento					
21/11/2017	1.8	79.8	74.4	23.4	22.2
28/11/2017	0.4	79.6	74.4	23.8	22.6
05/12/2017	0.2	81.1	75.8	23.8	22.6
12/12/2017	0.0	73.1	61.6	27.1	24.6
19/12/2017	0.4	71.8	61.2	26.4	24.2

3.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e, de acordo com a significância do teste F, as médias das variedades dentro de cada ano e dos anos para cada variedade foram comparadas pelos testes de Tukey e F respectivamente. Diferenças significativas foram relatadas para $p \leq 0.05$. Para o efeito dos dias de avaliação, foi aplicada análise de regressão polinomial, considerando-se modelos de até o 2º grau e $R^2 \geq 60\%$.

Realizou-se Análise de Componentes Principais (ACP), considerando-se o último dia de avaliação dos anos 2015 e 2017, com o objetivo de explorar o efeito conjunto da infecção por antracnose sobre o desempenho produtivo das variedades de feijão fava. Foi utilizado o software R® (Core Team 2018).

4 RESULTADOS

O valor acumulado de precipitação foi de 305.2 mm em 2015 e 2.8 mm em 2017, sendo registrada variações de média semanais de chuvas entre 125.2 mm a 15.2 mm em 2015, enquanto que em 2017 foram registrados valores abaixo do esperado para precipitação, ficando entre 0 mm a 1.8 mm (Tab. 1). A umidade relativa do ar variou de 86.5% a 96.8% no ano 2015, com média de 91.5%, enquanto que no ano 2017 variou de 61.2% a 81.1%, com média de 73.3% (Tab. 1). A temperatura no ano 2015 variou de 19.3 °C a 20.6 °C, com média de 20 °C, enquanto no ano 2017, a temperatura média foi um pouco elevada à 24.1 °C, variando de 22.2 °C a 27.1 °C (Tab. 1).

Foi verificada a evolução do progresso temporal da antracnose tanto em 2015, quanto em 2017, nas diferentes variedades de feijão fava, sob condições de campo. Em relação à severidade da doença, observou-se efeito significativo ($p \leq 0.01$) entre os tratamentos. O modelo de regressão linear e quadrático ajustou-se aos tratamentos no experimento de 2015, exceto para as variedades UFPB04 e UFPB20, onde não ajustaram ao modelo de regressão (Fig. 1a). Apenas os tratamentos UFPB04, UFPB06 e UFPB11 em 2017 ajustaram-se ao modelo de regressão linear (Fig. 1b).

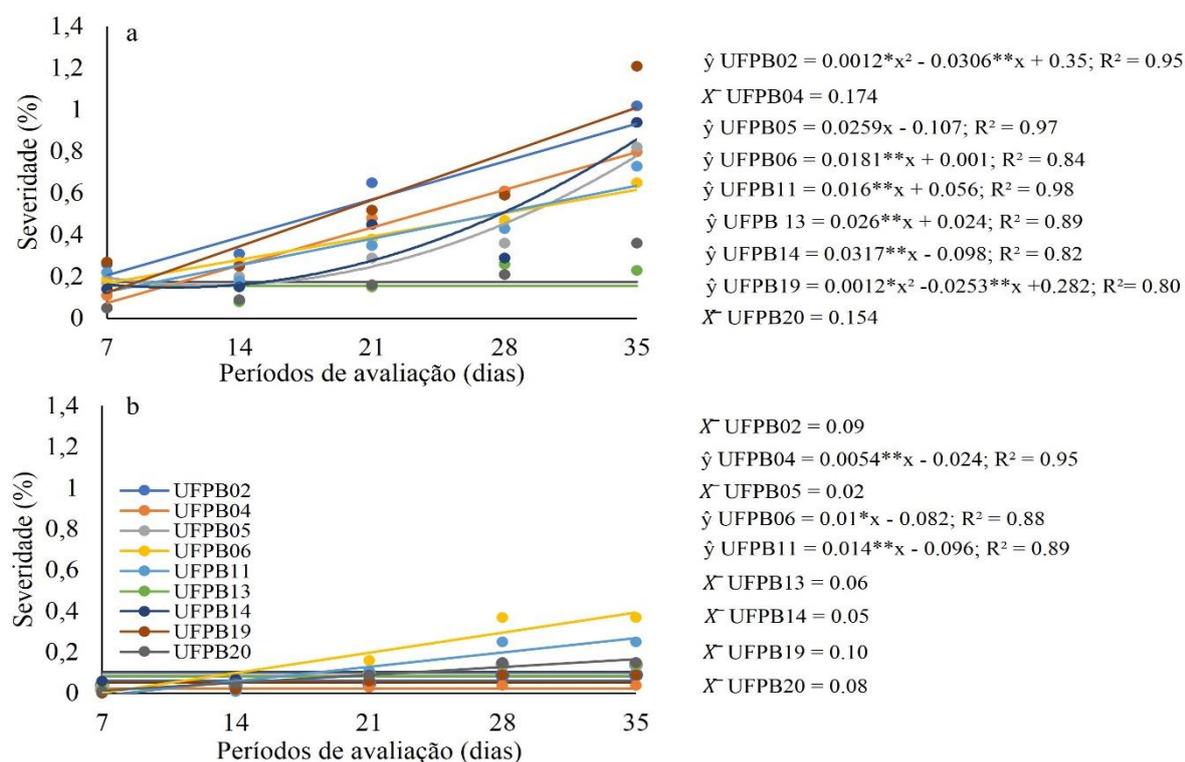


Fig. 1 - Severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), nas safras de 2015 (a) e 2017 (b), no município de Areia, Paraíba. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente.

A interação variedades *versus* períodos de avaliação, também foi significativa ($p \leq 0.01$), ou seja, o comportamento das variedades não foi semelhante nas diferentes épocas de avaliação da severidade. Aos 7 e 14 dias, verificou-se que os sintomas foram semelhantes entre as variedades avaliadas no experimento de 2015, não diferindo estatisticamente entre si (Fig. 1a).

A antracnose progrediu, desde o início da epidemia na área cultivada em 2015, atingindo médias de 0.27% e 0.31% de severidade aos 7 e 14 dias, respectivamente e, aumentou aos 35 dias, alcançando 1.21% na variedade UFPB14, diferindo significativamente de UFPB04 e UFPB20, sendo estas consideradas mais resistentes, pois apresentaram os menores percentuais de severidade (Fig. 1a).

Em 2017, o comportamento da doença na área foi diferente, uma vez que o progresso da doença progrediu mais lentamente entre os períodos de 7, 14 e 21 dias, atingindo valores de 0.06, 0.07 e 0.16% de severidade aos 35 dias de avaliação, para UFPB19, UFPB02 e UFPB11 respectivamente, não diferindo entre si (Fig. 1b). A doença tendeu a se estabilizar, a partir de 28 dias, pois manteve os valores de severidade entre as variedades. Ao final das avaliações, foram constatadas reduções máximas de 84.3% e 10.8% da severidade, ao relacionar aos valores máximos e mínimos encontrados nos tratamentos em 2015 e 2017, respectivamente (Fig. 1b).

Todos as variedades de feijão fava, foram consideradas resistentes, pois o grau de severidade manteve-se abaixo de 1.4%, conforme Belmino (2004), independente dos anos de safra (Fig. 1ab). Em um programa de melhoramento, poderiam ser utilizados no cruzamento com plantas suscetíveis, podendo gerar plantas superiores quanto à resistência à antracnose, destacando-se, por exemplo, os cultivares UFPB04 e UFPB20.

Foi observada uma correlação positiva ($p \leq 0,05$) entre os períodos de avaliação *versus* variedades, quanto ao percentual de incidência da antracnose. O modelo de regressão linear ajustou-se aos tratamentos no experimento de 2015 (Fig. 2a), contrariando os resultados observados na severidade.

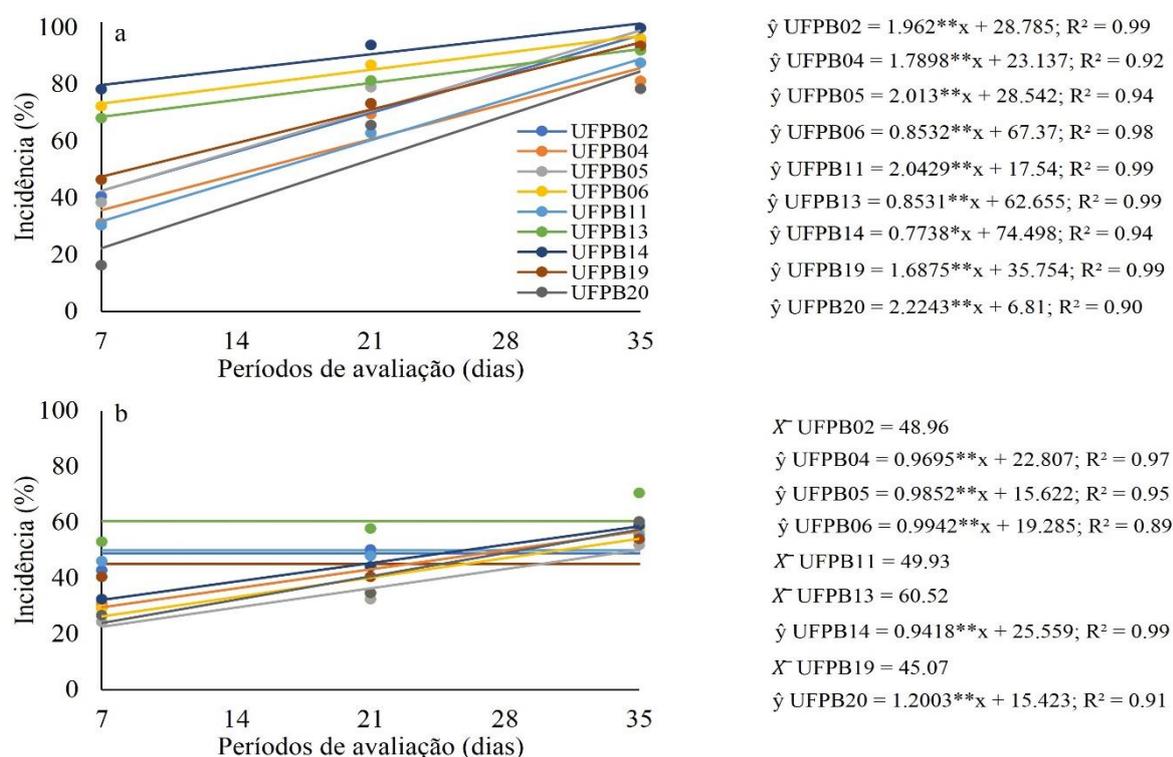


Fig. 2 - Incidência da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), nas safras de 2015 (a) e 2017 (b), no município de Areia, Paraíba. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente.

Para incidência da doença houve semelhança entre anos de safra (Fig. 2) e para incidência entre as variedades, observaram-se diferenças ($p \leq 0,05$) em cada ano e, que as plantas sintomáticas em 2015, apresentaram maior incidência da antracnose (Fig. 2a).

Na Fig. 2a, o valor máximo de incidência da antracnose foi verificado na UFPB14, seguido pelas variedades UFPB06 e UFPB13, diferindo-as das demais aos 7 dias de avaliação em 2015. Os dados de incidência revelaram uma diferença entre 78% e 69% quando comparadas as variedades UFPB04 e UFPB20, tidas com os menores percentuais de incidência da doença (Fig. 2a). Observou-se que aos 35 dias, a variedade UFPB14 manteve-se com valores de incidência da doença levemente altos em relação as cultivares supracitadas (Fig. 2a).

Em 2017 a variedade UFPB13 sobressaiu-se perante os demais (Fig. 2b), obtendo-se valores máximos de incidência da doença, independente do período de avaliação. Verifica-se na Fig. 2b, que UFPB05 apresentou menor valor de incidência da antracnose atribuído, obtendo-se uma diferença de 29% frente a maior percentual encontrado para esta variável, durante os períodos de avaliação, o que induz à uma redução considerável da doença nessa safra. A menor incidência da doença está provavelmente relacionada aos genes que codificam resistência presentes na cultivar e/ou relacionado ao mecanismo biológico direto envolvendo o patógeno.

A área abaixo da curva de progresso da doença variou de 4.6% a 15.5% no 2015 e de 0.74% a 5.5% em 2017 (Tab. 2). Assim, todas as variedades avaliadas, apresentaram plantas infectadas por *C. truncatum*, sendo que UFPB20 em 2015, diferindo ($p \leq 0,05$) das demais variedades. Já UFPB05 na safra de 2017 apresentou menor severidade da doença, diferindo ($p \leq 0,05$) entre os anos de safra (Tab. 2).

Tab. 2 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), índice de doença (ID) para a antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e produtividade (PROD) em variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), nas safras de 2015 e 2017, no município de Areia, Paraíba.

Variedades	2015	2017	2015	2017	2015	2017
	-----AACPD (escala)-----		-----ID (%)-----		-----PROD (Kg ha ⁻¹)-----	
UFPB02	28,18 abA	17,78 aA	8,50 abA	4,39 aB	4111,0 abA	----
UFPB04	17,89 abA	17,97 aA	5,71 bA	4,44 aA	2193,0 dA	2697,6 aA
UFPB05	26,73 aA	11,04 aB	8,82 abA	3,81 aB	3767,0 bcA	1545,0 bB
UFPB06	17,79 abA	17,71 aA	7,91 abA	5,03 aB	3201,3 cA	----
UFPB11	20,21 abA	17,72 aA	7,84 abA	5,76 aA	3629,0 bcA	2121,2 abB
UFPB13	19,29 abA	15,24 aA	9,65 abA	4,09 aB	4987,0 aA	----
UFPB14	20,84 abA	18,32 aA	10,79 aA	4,09 aB	1921,5 dA	1727,2 bA
UFPB19	21,79 abA	14,04 aB	9,20 abA	4,44 aB	3292,0 bcA	1997,8 abB
UFPB20	14,81 bA	16,74 aA	5,38 bA	4,41 aA	3371,0 bcA	1587,3 bB
c.v(%)	22,5*		26,4*		11,7**	

*Médias seguidas por diferentes letras, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente.

Em 2015, as variedades UFPB02 e UFPB05 foram alocados no grupo de maior intensidade de antracnose e os demais formando um grupo intermediário, com exceção da UFPB04, UFPB06 e UFPB20 tidas com menor severidade da doença. Em 2017, as variedades UFPB05 e UFPB14 sobressaíram entre as demais, sendo agrupados com maior e menor intensidade da doença, respectivamente e, os demais foram classificados no grupo intermediário (Tab. 2).

Para os índices de doença, obtidos por meio da severidade final da antracnose (Tab. 2), foi possível evidenciar índices maiores em 2015 entre as variedades, logo diferiram entre si ($p \leq 0,05$), assim como, na safra de 2017 (Tab. 2). Dentre as variedades, UFPB20 destacou-se entre os demais, por ter o menor índice de doença em 2015 (Tab. 2). No entanto, em 2017 todas

as variedades mantiveram-se com valores de índice de doença bem abaixo em relação à 2015, não diferindo entre si, exceto UFPB11 que em 2017 apresentou maior índice de doença (Tab. 2).

Na Tab. 2, são apresentados os dados de produtividade em kg de grãos ha⁻¹ para as diferentes variedades. Observa-se nestes resultados uma interação significativa ($p \leq 0.05$) entre as variedades *versus* safras agrícolas. Verificou-se que o rendimento de grãos diminuiu conforme os anos avaliados e, os resultados obtidos em 2015 foram superiores aos de 2017 (Tab. 2). Acredita-se que essa diminuição na produtividade em 2017 possa estar ligada as condições climáticas, ao verificar menor precipitação pluviométrica, durante os meses de agosto à dezembro de 2017, coincidindo com o estágio V5 (enchimento de grãos), provocando alterações fisiológicas, bem como a ocorrência da lagarta da vagem (*Etiella zinckenella*), interferindo sobre o desenvolvimento das plantas e influenciando negativamente na produtividade das variedades em 2017 (Tab. 2).

Com base nos resultados de produtividade (Tab. 2) as variedades foram subdivididas em três categorias de grupos: No primeiro ano (2015), UFPB02 e UFPB13 constituíram o primeiro grupo, alcançando-se os maiores rendimentos de 4111 kg ha⁻¹ e 4987 kg ha⁻¹, respectivamente. O segundo grupo engloba UFPB05, UFPB06, UFPB11, UFPB19 e UFPB20 com valores intermediárias entre 3201.3 kg ha⁻¹ a 3767 kg ha⁻¹ e, no terceiro grupo têm-se UFPB04 e UFPB14, que apresentaram valores não superiores à 2500 kg ha⁻¹, atribuindo-se a menor média de produtividade encontrada em 2015.

Na safra de 2017, observou-se diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre as variedades, com uma variação entre 1997,8 kg ha⁻¹ à 2697,6 kg ha⁻¹ entre as variedades UFPB04, UFPB11 e UFPB19 consistiram no grupo de maior produtividade, no entanto, a produtividade foi bem inferior em relação ao ano 2015 (Tab. 2). Seguido por UFPB05, UFPB14 e UFPB20 com valores entre 1545 kg ha⁻¹ à 1727.2 kg ha⁻¹, considerando-se valores intermediários e no terceiro grupo UFPB02, UFPB06 e UFPB13, não sendo registrada a produtividade para estas cultivares (Tab. 2). Em ambas as épocas de cultivo, as plantas de feijão fava estão expostas a fatores como estresse biótico e abiótico, podendo ocasionar perdas consideráveis na produção. No entanto, os fatores que estão mais ligados à redução da produtividade das variedades são os abióticos relacionados ao clima (disponibilidade hídrica do solo, temperatura e umidade relativa do ar).

A análise de componentes principais (ACP) mostrou 78.11% da variância entre os tratamentos com apenas um componente principal. Na Tab. 3, pode-se observar uma descrição das contribuições das variáveis para os dois primeiros componentes principais, que por sua vez, contribuem para a diferenciação das variedades de feijão fava nos anos 2015 e 2017 (Fig. 3).

Observa-se a formação de dois grupos, compostos por variedades de feijão fava com características distintas, com base nas características de resposta à antracnose e produtividade.

Tab. 3 - Autovetores dos dois componentes principais (CP1 e CP2) para as variáveis relacionadas aos aspectos epidemiológicos da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e produtividade das variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), nos anos 2015 e 2017, no município de Areia, Paraíba.

Variáveis	CP1		CP2	
	Autovetores	Correlação	Autovetores	Correlação
Severidade	0.48148	0.95	-0.33837	-
Incidência	0.47316	0.94	-0.16585	-
AACPD	0.41062	0.81	0.17227	-
Índice de doença	0.48627	0.96	-0.30655	-
Produtividade	0.37311	0.74	0.85693	0,64
Autovalor	3.96		0.558	
Percentual	78.1		11.2	

Valores em negrito representam autovetores com contribuição significativa (correlação superior a ± 0.6) para o componente em questão determinado de acordo com Wairegi e Van Asten (2011).

Ambas as variáveis de severidades, incidência, AACPD, ID e produtividade apresentaram contribuições positivas para o CP1, observadas pelos elevados autovetores e consequente correlação forte com o componente (Tab. 3). Por sua vez, todas as variedades em 2017 (Grupo 2) obtiveram escores negativos no CP1 (Tab. 3), indicando menores incidência, severidade, ID e AACPD da doença neste ano. Por outro lado, as variedades UFPB02, UFPB05, UFPB06, UFPB11, UFPB13 e UFPB19, em 2015 (Grupo 1), apresentaram escores positivos no CP1 (Tab. 3), demonstrando que, em 2015 houve maior infecção do patógeno nestas variedades. Os maiores índices de doença observados em 2015 foram favorecidos, principalmente, pelas condições climáticas (precipitação total e umidade relativa mínima) favoráveis à doença, em que as manchas foliares ocorreram com maior frequência e intensidade sob condições de clima quente e úmido.

As variedades UFPB04 e UFPB20 apresentaram-se sempre do lado negativo no eixo do CP1 (Grupo 2), mesmo para 2015. Este comportamento sugere que as variedades UFPB04 e UFPB20 foram mais resistentes ao patógeno, pois, mesmo sob condições favoráveis ao estabelecimento da doença, demonstraram menores valores de incidência, severidade, ID e AACPD (Fig. 3).

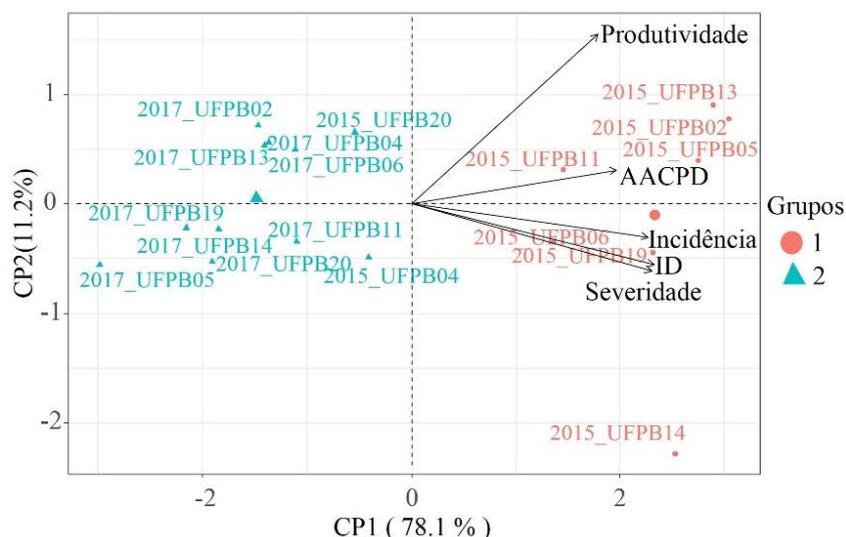


Fig. 3 - Biplot para os escores das variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), nas safras de 2015 e 2017 e, para as variáveis relacionadas aos aspectos epidemiológicos da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) dos dois primeiros componentes principais determinados, no município de Areia, Paraíba. ID= índice de doença

As variedades UFPB02, UFPB05 e UFPB13 em 2015, se destacaram por estarem mais próximas ao autovetor correspondente à produtividade. Assim, mesmo sob maiores índices de infecção, estas variedades demonstraram bom desempenho produtivo, caracterizando tolerância ao patógeno (Fig. 3).

Apenas a produtividade apresentou contribuição significativa para o CP2 (autovetor de 0.85693, resultando em correlação de 0.64 com o componente), enquanto as demais variáveis apresentaram baixos autovetores (Tab. 3). Por sua vez, UFPB02, UFPB05 e UFPB13 em 2015, se destacaram pelos escores positivos e mais elevados no eixo do CP2. Neste contexto, além de apresentarem baixos níveis de infecção em 2015 e 2017, UFPB20 destacou-se pela produtividade média na safra de 2015, dentre os demais. É importante ressaltar que UFPB13 em 2015 apresentou o maior escore positivo para o CP2, indicando maior produtividade (Fig. 3).

5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com Carmo et al. (2015) ao verificarem variação de comportamento quanto à resistência à *C. truncatum*, onde também ocorrem reações distintas entre variedades de feijão fava, que apresentaram nível elevado de resistência, atribuindo-se notas entre 0.88 e 1.5 considerados moderadamente resistente (MR) a altamente resistente (AR). Os autores perceberam que aos sete dias após a inoculação do patógeno sobre folha destacada, a maioria das variedades tornou-se altamente suscetível (AS), atingindo notas máximas de 4.75%.

Gomes e Nascimento (2018), ao testarem a resistência de 15 variedades de feijão fava à *C. truncatum*, encontraram variedades com grau de resistência de AR, a partir dos sete dias após inoculação. Aos 35 dias apenas as variedades UFPB09 e UFPB14 mantiveram esse grau de resistência, sendo obtidas as notas de 1.2% e 1.4%, respectivamente, sendo que os demais passaram de MR para moderadamente suscetível (MS), atribuindo-se notas de 1.9 a 3% para a severidade da antracnose neste período. Comportamento semelhante é encontrado em UFPB14 neste estudo em relação ao grau de resistência AR à *C. truncatum*, ao passo que é evidenciada também uma leve redução na severidade da doença sob condições de campo, quando comparadas aos autores supracitados, sob ambiente protegido.

Assim como observado neste estudo, Cavalcante et al. (2012) avaliando a reação de variedades de feijão fava à *C. truncatum*, oriundos da região Nordeste, observaram que no universo de 30 genótipos apenas UFPI251 e UFPI673 foram considerados AR, onde as notas de severidade da doença foi de 1.25% e 0.75%, respectivamente, sob folhas destacadas, aos sete dias após inoculação. Santos et al. (2015) também verificaram variações no grau de resistência entre genótipos de feijão fava à *C. truncatum*, no entanto, aos sete dias após inoculação apenas UFPI503 recebeu a classificação de AR, dentro do universo de 57 genótipos, sendo a nota de severidade da doença estimada em 0.75%.

Os resultados encontrados corroboram com Santos et al. (2015) e Cavalcante et al. (2012), visto que dentre as nove variedades de feijão fava, todas se comportaram como AR, entre 7 a 35 dias de avaliação sob condições de campo (Fig. 1a). Além disso, a baixa severidade da antracnose entre as variedades avaliadas pode ter sido influenciada pela ocorrência de baixas precipitações e umidade relativa, bem como altas temperaturas, verificadas durante a condução do experimento em 2017 (Fig. 1b). Diante do exposto, pode-se confirmar a possibilidade de que estas variedades podem ser usadas como parentais resistentes à *C. truncatum* do feijão fava em programas futuros de melhoramento.

Segundo Cavalcante et al. (2012), este fato ocorreu devido, provavelmente, à variação na severidade verificada dentro das repetições de cada subamostra em função de vários fatores abióticos e bióticos. Para Chala et al. (2010), a avaliação de doenças sob efeito das variáveis climáticas podem estar atribuídas às diferentes reações observadas entre os mesmos genótipos, quando submetidos à diferentes condições de cultivo. Costa et al. (2009) afirmaram que fatores como temperaturas moderadas, alta umidade e longos períodos de molhamento foliar são responsáveis por favorecerem o desenvolvimento de fungo do gênero *Colletotrichum* spp.

Juliatti et al. (2011) consideraram a idade fisiológica das plantas, o microclima e a variabilidade genética ao avaliarem os sintomas de desfolha em alfafa (*Medicago sativa* L.) na

presença de antracnose, pois estes fatores podem contribuir na evolução da doença. Nascimento et al. (2017), admitem também que o patógeno estudado é bastante variável e que a interação entre outras cultivares e outras raças do fungo possam resultar em respostas diferentes.

Belmino (2004) avaliou a reação de variedades de feijão caupi a *C. truncatum* e observou que as plantas inoculadas com uma e duas semanas após o plantio apresentaram menores valores de severidade, enquanto em planta com três semanas de idade a severidade foi maior. Levando em consideração que o ciclo da cultura do feijão fava é de 150 dias, as plantas podem ter apresentado um mecanismo de defesa ao patógeno, sendo estas a resposta hipersensitiva (HR), resistência sistêmica adquirida (SAR), a indução de proteínas relacionadas a patogênese (PR - Proteínas) e a indução de compostos sinalizadores (Fernandes et al. 2009).

Sartori (2016) verificou comportamento semelhante ao estudar a variabilidade genética entre genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) quanto a resistência à *C. lindemuthianum* e constatou que praticamente todas as plantas foram atingidas pela doença e, que uma maior incidência não causou a diminuição da produtividade de grãos na cultivar IPR Tangará, em relação aos demais genótipos. Isso pode ter ocorrido pelo fato de a planta ter ativado mecanismos de defesa quanto ao patógeno, e com isso ter apresentado menor incidência sem ter perdido em produtividade por gastar menos energia.

As variedades de feijão fava estudadas apresentam consistência em relação às avaliações de incidência da antracnose, onde apenas uma única variedade UFPB20 apresentou menor incidência significativa no experimento conduzido no ano 2015 (Fig. 2a). Tal comportamento é verificado nas avaliações de severidade e incidência da antracnose (Figuras 1 e 2) entre as variedades de feijão fava pode estar ligado ao princípio da resistência horizontal, que é considerada quantitativa devido à presença de uma variação contínua de graus de resistência, variando da extrema suscetibilidade até a extrema resistência.

Similarmente, Copacheski (2015) observou que houve diferença na incidência da antracnose entre as variedades de feijoeiro, onde as variedades Vermelho e Uirapuru apresentaram valores menores de incidência, que podem indicar menor suscetibilidade ao patógeno. Montemor (2010) também obteve resultados semelhantes onde quatro acessos de feijoeiro BAF's 07, 45, 60 e 148 apresentaram maior resistência a antracnose em relação a três cultivares comerciais Pérola, SCS 202 Guará e IPR Uirapuru, colocando-os como possíveis materiais promissores para um futuro trabalho de melhoramento genético com esses materiais. Segundo Abreu et al. (2003) é possível encontrar plantas produtivas e resistentes sob alta incidência de antracnose.

A amplitude de variação da área abaixo da curva de progresso da antracnose no experimento registrados nas safras de 2015 e 2017, pode estar ligada a presença de variabilidade entre os materiais não melhorados, uma vez que as mesmas foram disponibilizadas pelos agricultores. De acordo com Ramalho e Abreu (2008), pelo fato da grande parte dos agricultores não adquirem sementes, pois normalmente reutilizam suas próprias sementes ou de produtores próximos.

Existe grande variabilidade do material utilizado pelos agricultores que, devido à misturas mecânicas, é possível a ocorrência de cruzamento entre os milhares de indivíduos que são anualmente semeados. Essa variabilidade genética encontrada no material disponibilizado pelos agricultores, constituem um 'pool' gênico com característica singular, normalmente utilizado no programa de melhoramento da cultura, no entanto, espera-se que apenas sobrevivam aquelas linhagens que possuem alguma vantagem adaptativa (Sartori,2016).

Segundo Bessalho Filho (2007) com base na classificação de resistência a doenças, a área abaixo da curva de progresso da doença permite identificar variedades ou cultivares com maior nível de resistência horizontal, pois ela reduz a taxa de desenvolvimento da doença, sem depender do inóculo inicial. Esse fato foi observado no presente trabalho com todas as variedades, porém UFPB20 diferiu dos demais em 2015.

Os resultados de índice de doença são condizentes com os obtidos por Santos et al. (2008) onde foram testadas 24 variedades de feijoeiro, frente a diferentes isolados de *C. lindemuthianum*. Conforme os autores, apenas as variedades Rio Tibagi, Minuano e Campeiro, apresentaram índices de doença de até 16.67%, consideradas resistentes aos isolados testados.

A amplitude de resistência observada nestas variedades de feijão fava quanto ao índice de doença, das cultivares e linhagens comerciais de feijoeiro, pode qualificá-las como fontes promissoras de resistência, sendo consideradas uma perspectivas favoráveis em relação ao controle da doença, pois como elas têm possibilidade de evoluírem em cultivares, seu uso significará uma menor probabilidade de ocorrência da antracnose (Santos et al., 2008).

Diferentemente dos resultados obtidos por Jobim et al. (2000) os índices de doença, as variações observadas para esse índice foi de 0 a 0,6063, onde as menores associações foram estimadas para o índice de antracnose e as maiores pelo índice de ferrugem, sobre a interferência de variáveis ambientais à interação variedade e ambiente em feijoeiro. Para os autores, estes valores confirmam o fraco desempenho das variáveis ambientais, que pela metodologia usada, motivaram a perda de precisão das estimativas dos parâmetros do modelo. No entanto, temperatura e disponibilidade hídrica, juntamente com as doenças, são, reconhecidamente, as variáveis ambientais mais importantes para a cultura.

Neste sentido, a análise de interação de variedades de feijão *versus* ambiente e os resultados inexpressivos obtidos com os índices de doença devem-se, em grande parte, aos baixos níveis de incidência registrados nas safras. No caso, os valores dos índices mantiveram-se quase sempre em níveis de resistência, alcançando, apenas para antracnose valores intermediários (Jobim et al., 2000). Esse tipo de comportamento foi apresentado em 2017, onde o índice de doença no feijão fava estiveram abaixo em relação ao ano 2015 (Tab. 2).

Segundo Santos et al. (2008), as implicações genéticas da coevolução de patógeno-hospedeiro em cada ambiente são que as populações do patógeno, nativas ou emergentes, possuem diferentes genes de patogenicidade, sendo que seus respectivos hospedeiros oferecem uma diversidade similar quanto a genes de resistência. Neste sistema é primordial conhecer as raças presentes para selecionar os materiais com resistência a essas variantes e eventualmente iniciar a introgressão destes genes em cultivares comerciais.

Ao comparar o rendimento médio da produção do feijão fava estimada em 11.193 t na região Nordeste (NE) para a safra de 2018 (IBGE, 2019), com a produtividade obtidas entre as variedades avaliadas, observa-se que os mesmos são superiores (Tab. 2), bem como em relação a produtividade nacional de 11.828 t. Para Silva et al. (2019) a produtividade da região NE é caracterizada por sistemas de agricultura familiar sem o uso de insumos e tecnologia como fertilizantes e irrigação. Já a produtividade das regiões Centro-Oeste e Sul com estimativa de 549 t e 23 t, respectivamente, mostrando-se semelhantes aos observados neste estudo. No entanto, deve ser ressaltado que esse sistema agrícola é mais tecnificado, pois costuma ter um manejo diferenciado a partir da adubação orgânica e mineral, espaçamento entre covas, tutoramento e irrigação em grande parte do período de cultivo (IBGE 2019).

Barreiro Neto et al. (2015) avaliando diferentes variedades de feijão fava em cultivo consorciado com milho (*Zea mays* L.) alcançou produção de grãos entre 583 a 1.486 kg ha⁻¹, no entanto, os resultados deste estudo mostraram que a variação de produtividade no primeiro ano (2015) foi superior aos encontrados por esses autores (Tab. 2) e levemente superiores aos observados por Silva et al. (2019). Foi possível verificar que a variedade Orelha de vó (UFPB13) apresentou maior produtividade de grãos (3614 kg ha⁻¹), destacando-se das demais variedades e, que os menores valores foram observados nas variedades Moita e Branca pequena, com 1391 e 1421 kg ha⁻¹.

De acordo com os registros de produtividade, além da variação encontradas entre as nove variedades de feijão fava, ocorreu um decréscimo acentuado quanto a produtividade em 2017 (Tab. 1). Corroborando com Silva et al. (2017) também houve uma variação de 32.28 a 82.67 g para a produtividade em 2015, sendo mais evidente quando comparado ao ano 2016

que variou entre 28.67 a 58.60 g. Para os autores os resultados obtidos situaram-se dentro do intervalo encontrado por Santos et al. (2002), que foi de 32.6 a 79.5 g no universo de oito variedades de feijão fava. Melo (2005) encontrou variação de 30.96 a 82.29 g no ensaio com 13 variedades de feijão fava.

Gomes et al. (2010) ao avaliarem variedade de feijão fava com relação a componentes de produtividade, também detectaram variação de 23.28 a 39.47 g, enquanto Oliveira et al. (2011) estimaram variação de 31.16 a 49.96 g. Estes trabalhos mostram a grande variabilidade dessa característica na cultura, embora os valores encontrados neste estudo estejam um pouco acima dos verificados na literatura.

Silva et al. (2019) verificaram que o rendimento de grãos diminuiu conforme os anos avaliados, onde os resultados obtidos em 2015 foram superiores aos de 2016. Esse decréscimo na produtividade na safra de 2017 pode ter advindo da menor precipitação pluviométrica (Fig. 2) e, também observaram a ocorrência de alta incidência da lagarta da vagem (*Etiella zinckenella*) nas mesmas variedades sobre condições de campo e, que conseqüentemente tanto as vagens como as sementes foram comprometidas pela praga (dados não publicados). Gomes et al. (2010) citam que em cultivos de feijão fava foram registrados também a ocorrência de incidência da lagarta da vagem variando de média a alta, por conseqüência podem apresentar reduções significativas da produtividade. *E. zinchnella* provoca danos significativos nas vagens e sementes dessa espécie, uma vez que são componentes de produção diretamente ligados a produtividade final das culturas anuais.

Pode ocorrer abortamento de flores e vagens quando submetidas ao estresse hídrico durante os estádios R6 e V5 (floração e enchimento de grãos) (Oliveira et al., 2014). A produtividade, entretanto, pode também mostrar valores mais altos de herdabilidade, como os encontrados por Benvindo et al. (2010) de 88.5% entre variedades comerciais de feijão caupi em regime de sequeiro, e de 95.8% para os mesmas variedades em regime irrigado.

A análise de Componentes Principais e a análise de Cluster associadas permitiram uma boa descrição multivariada dos aspectos epidemiológicos da antracnose em diferentes variedades de feijão fava e épocas de safras agrícolas. O primeiro componente principal (CP1) explicou 78.1% da variância do conjunto de dados (Tab. 3) e, este CP1 pode ser considerado um índice global do desempenho produtivo das variedades de feijão fava bem como dos aspectos epidemiológicos da antracnose incidente nestes variedades, pois ambas as variáveis em estudo apresentaram correlação positiva forte ou muito forte com o CP1.

O Grupo 1 foi composto por variedades que apresentaram simultaneamente maior severidade, incidência da antracnose, índice de doença, área abaixo da curva de progresso da doença e produtividade (Fig. 3). As variedades do Grupo 1 poderiam, então, serem consideradas mais tolerantes a antracnose em relação as variedades do Grupo 2, pois demonstraram maior produtividade mesmo sob estresse associado ao elevado grau de ataque da doença, caracterizando plantas mais adaptadas e evolutivamente diferentes em suas estratégias de tolerância e capacidade de manter maior rendimento produtivo (Forknall et al. 2019).

Sartori (2016) relata que houve correlação positiva entre aspectos epidemiológicos da antracnose e a produtividade de feijoeiro, evidenciando correlação positiva entre a produtividade e as variáveis de incidência média e área abaixo da curva de progresso de incidência, sendo significativa para ambas. Neste trabalho, a maior correlação positiva foi entre a produtividade e a variável AACPD (Tab. 3). Dentre as características a que favorecem a produtividade do feijão fava, mesmo sob ataque da doença é o crescimento do tipo indeterminado, exceto para UFPB04 e UFPB14. Segundo Yamaguchi et al. (2019), com esse tipo de crescimento, à medida que a doença destrói o tecido, novos tecidos são formados, conseqüentemente novas gemas florais e vagens são produzidas, favorecendo maior produção para variedades com crescimento indeterminado.

Corroborando com os resultados da análise de componentes principais (Fig. 3) Assunção Filho et al. (2012) perceberam que os primeiros componentes principais explicaram 78% da variação em estudando de caracterização de subamostra de feijão fava por meio dessa supracitada análise. Segundo Cruz et al. (2004) o ideal é a utilização dos primeiros componentes principais quando esses envolvem pelo menos 80% da variação total. No entanto, há estudos em que mesmo onde esse limite não é atingido, a análise tem se mostrado eficaz na avaliação da diversidade genética (Rodrigues et al. 2002).

Estudos conduzidos por Sartori (2016) revelaram que a análise de Componentes Principais, pôde mostrar que a área abaixo da curva de progresso da severidade e da incidência da doença apresentaram alta correlação positiva com as notas médias das avaliações realizadas quanto a antracnose entre as variedades de feijoeiro. Assim como, houve correlação entre o início do aparecimento dos sintomas e o tempo para atingir a máxima incidência da doença, considerada positiva com valor significativo, sugerindo que as variedades são consideradas suscetíveis à doença e não possuem estratégias de resistência.

Talamini (2003) não observou correlação significativa entre a área abaixo da curva de progresso da incidência e da severidade da doença com a produção de grãos de feijoeiro, nas duas épocas de plantio estudadas. Sartori (2016) revelou que a área abaixo da curva de

progresso da doença apresentou correlação negativa com a massa de 100 grãos, porém foi positiva quanto ao número de vagens por planta. No entanto, não houve correlação entre a área abaixo da curva de progresso da severidade e a produtividade de grãos.

Esse resultado pode ser explicado, provavelmente, pelo tipo de crescimento indeterminado que o feijoeiro apresenta, assim como apresenta-se as variedades de feijão fava, pois à medida que a doença destrói o tecido, novos tecidos são formados, e com isso não afeta diretamente na produção. Esses fatos são importantes do ponto de vista de seleção de variedades, já que a resistência genética vem sendo cada vez mais difícil de ser selecionada.

É sabido que o desenvolvimento de variedades resistentes pode ser uma estratégia de controle específico contra antracnose e outros patógenos com aspectos epidemiológicos diferentes, que atualmente acometem o feijão fava no Brasil (Sousa et al. 2017).

Há interação entre variedades e anos de safra, gerando ambientes favoráveis e não favoráveis à incidência da antracnose, sendo possível observar o comportamento das variedades em duas safras. Foi observada variabilidade genética entre as variedades crioulas de feijão fava quanto à resistência a *C. truncatum*, onde as variedades UFPB04 e UFPB20 foram consideradas mais resistentes ao patógeno e com aptidão para serem usadas em programas de melhoramento genético.

6 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES Brasil), pela concessão de bolsas do primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- Abreu, Â. F. B., Ramalho, M. A. P., Gonçalves, F. M. A. & Mendonça, H. A. (2003). Utilização da produtividade de grãos na seleção para resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* no feijoeiro. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 27(2), 363-369.
- Assunção Filho, J. R., da Penha, J. S., Ferreira, M., Lopes, A. D. A., Gomes, R., & Silva, K. (2012). Caracterização de subamostras de feijão fava (*Phaseolus lunatus* L.) por meio de análise de componentes principais. In Embrapa Meio-Norte-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, 2., Belém, PA. Anais... Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos.

- Barreiro Neto, M., Fagundes, R. A. de A., Barbosa, M. M., Nair, H. C. A., Franco, C. F. de O. & Santos, J. F. dos (2015). Características morfológicas e produtos em acessos de feijão-fava consorciados. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, João Pessoa, 9(3), 23-27.
- Belmino, C. S. (2004). Resistência do feijão-feijão caupi à *Colletotrichum truncatum*. 64f. Tese Doutorado em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Benvindo, R. N., Silva, J. A. L., Freire Filho, F. R., Almeida, A. L. G., Oliveira, J. T. S. & Bezerra, A. A. C. (2010). Avaliação de genótipos de feijão caupi de porte semi-prostrado em cultivo de sequeiro e irrigado. *Comunicata Scientiae*, Bom Jesus, 1(1), 23-28.
- Bespalhok Filho, J. C., Guerra, E. P. & Oliveira, R. (2007). Melhoramento para resistência a doenças. In: Bespilhok Filho, J. C., Guerra, E. P. & Oliveira, R. *Melhoramento de plantas*. Curitiba: UFPR. 16, 11- 18.
- Campbell, C. L. & Madden, L. V. (1990). Introduction to plant disease epidemiology. New York, John Wiley & Sons.
- Carmo, M. D. S., Carvalho, E. M. S., Gomes, R. L. F., Lopes, A. C. A. & Cavalcante, G. R. S. (2015). Avaliação de acessos de feijão fava, para resistência a *Colletotrichum truncatum*, em condições de folhas destacadas e campo. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 41(4), 292-297.
- Cavalcante, G. R. S., Carvalho, E. M. S., Gomes, R. L. F., Santos, A. R. B. & Santos, C. M. P. M. (2012). Reação de subamostras de feijão fava à antracnose. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 38(4), 329-333.
- Cavalcanti, F. J. A. (2008). Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco: segunda aproximação. Recife: Instituto Agrônômico de Pernambuco, IPA, 212p.
- Chala, A., Brurberg, M. B., Tronsmo, A. M. (2010). Incidence and severity of sorghum anthracnose in Ethiopia. *Plant Pathology Journal*, Suwon, 9(1), 23-30.
- Copacheski, M. (2015). Rusticidade de acessos e uso de terapias não residuais no manejo ecológico de *Phaseolus vulgaris* L. 85 f. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.
- Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org>. Accessed in 15 Jun. 2018.
- Costa, I. F. D., Balardin, R. S., Medeiros, L. A. M., Lenz, G., Gulart, C. A., Zemolin, C. R. & Silva, T. M. B. (2009). Reação de germoplasma comercial de soja a *Colletotrichum truncatum*. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, 34(1), 47-50.

- Cruz, C. D., Regazzi, A. J. & Carneiro, P. C. S. (2004). *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 3. ed. Viçosa: UFV, 480.
- Dalla Pria, M. & Amorim, L. (2010). Métodos de avaliação de doenças. In: Dalla Pria, M. & Silva, O. C. *Cultura do feijão*. Ponta Grossa: Editora UEPG, 132.
- Damm, U., Woudenberg, J. H. C., Cannon, P. F. & Crous, P. W. (2009). *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. *Fungal Diversity*, Thailand, 39, 45-87.
- Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisas de Solos (2013). *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. 3. Ed. Brasília, DF: Embrapa Produção de Informação, 353.
- Erkilic, A., Guven, B. & Akgul, D. S. (2006). Effects of some plant activators and plant materials on stem rot disease of peanut and pepper caused by *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Turkish Phytopathology*, Bornova, 35(1-3), 15-28.
- Fernandes, C. D. F., Vieira Júnior, J. R., da SILVA, D. S. G., Reis, N. D., & Antunes Júnior, H. (2009). *Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos*. Documentos/Embrapa, Porto Velho, 133, 18.
- Forknall, C. R., Simpfendorfer, S. & Kelly, A. M. (2019). Using yield response curves to measure variation in the tolerance and resistance of wheat cultivars to *fusarium* crown rot. *Phytopathology*, Saint Paul, 109(6), 932-941.
- Gomes, R. S. S. & Nascimento, L. C. (2018). Induction of resistance to *Colletotrichum truncatum* in lima bean. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, 85(1), 1-7.
- Gomes, S. O., Reis, R. L. R., Carmo, M. D. S., Assunção Filho, J. R., Gomes, R. L. F. & Lopes, A. C. A. (2010). Avaliação de componentes de produtividade de grãos em sub-amostras de feijão fava de crescimento determinado. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, Recife, 7(1), 312-317.
- Guedes Filho, D. H., Santos Júnior, J. A., Costa Filho, J. F., Francisco, P. R. M. & Campos, V. B. (2011). Estimativa da evapotranspiração de referência para a cidade de Areia, Paraíba. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada*, Fortaleza, 5(1), 37-47.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2019), Banco de dados agregados: pesquisas: Pesquisa agrícola municipal. <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1612#resultado>. Acessado em 6 de Ago. 2019.
- Jobim, C. I. P., Lemos, E. C., BURIN, M. E., & Schuck, E. (2000). Contribuição de variáveis ambientais à interação genótipo x ambiente em feijão. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, Porto Alegre, 6(1), 27-38.

- Juliatti, F. C., Pimenta, F. A., Martins, J. A. S., Pozza, E. A., Silva, S. A., Rey, M. S. & Santos, R. R. (2011). Resistência de cultivares de alfafa à Antracnose e à mancha de *Leptosphaerulina* em Uberlândia-MG. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 37(4), 169-173.
- Köppen, G. W. & Geiger, M. R. (1936). *Handbuch der Klimatologie*. Berlin, 44.
- Long, R., Temple, S., Meyer, R., Schwankl, L., Godfrey, L., Canevari, M., & Roberts, P. (2014). *Lima Bean Production in California*. University of California, 8505, 25p.
- Melo, L. J. V. (2005). Morfofisiologia e rendimento de feijão fava sob diferentes condições de manejo cultural. 166f. Tese (Doutorado Temático em Recursos Naturais), Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.
- Montemor, C. L. B. (2010). Reação à Antracnose de acessos de feijão do banco ativo de germoplasma da UDESC/CAV. 45 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.
- Nascimento, A. D., Feijó, F. M., Albuquerque, A. W., Assunção, I. P., de Andrade Lima, G. S., & Reis, L. S. (2017). Severidade da Antracnose do feijão fava afetada por doses de cálcio e fontes de silício. *Revista Ciência Agrícola*, Rio Largo, 15(2), 61-68.
- Noetzold, R., Alves, M. C., Cassetari Neto, D. & Machado, A. Q. (2014). Variabilidade espacial de *Colletotrichum truncatum* em campo de soja sob três níveis de sanidade de sementes. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 40(1), 16-23.
- Oliveira, A. E. S., Simeão, M., Mousinho, F. E. P. & Gomes, R. L. F. (2014). Desenvolvimento do feijão fava (*Phaseolus lunatus* L.) Sob déficit hídrico cultivado em ambiente protegido. *Holos*, Natal, 1(1), 143-151.
- Oliveira, F. N., Torres, S. B. & Benedito, C. P. (2011). Caracterização botânica e agrônômica de acessos de feijão fava, em Mossoró, RN. *Revista Caatinga*, Mossoró, 24(1), 143-148.
- Ramalho, M. A. P. & Abreu, Â. F. B. (2008). Cultivares. In: Vieira, C.; Paula Júnior, T. J.; Borém, A. (Ed.). *Feijão*. 2. Ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 415-436.
- Rodrigues, L. S., Antunes, I. F., Teixeira, M. G. & Silva, J. B. (2002). Divergência genética entre cultivares locais e cultivares melhoradas de feijão, *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, 37(9), 1275-1284.
- Sánchez-Navarro, V., Zornoza, R., Faz, Á. & Fernández, J. A. (2019). Comparing legumes for use in multiple cropping to enhance soil organic carbon, soil fertility, aggregates stability and vegetables yields under semi-arid conditions. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam 246(27). 835-841.

- Santos, A. da S., Curado, F. F. & Tavares, E. D. (2019). Pesquisas com sementes crioulas e suas interações com as políticas públicas na região Nordeste do Brasil. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, Brasília, 36(3), 1-19.
- Santos, A. R. B., Simeão, M., Barros, P. S., Cavalcante, G. D. S. & Carvalho, E. M. S. (2015). Seleção de subamostras de feijão fava para resistência à antracnose/fava bean of subsamples selection for resistance anthracnose. *Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas*, Tupã, 9(3), 268-278.
- Santos, D., Corlett, F. M. F., Mendes, J. E. M. F. & Júnior, J. S. A. W. (2002). Produtividade e morfologia de vagens e sementes de variedades de feijão fava no Estado da Paraíba. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 37(10), 1407-1412.
- Santos, J., Antunes, I. F., Rey, M. D. S. & Rossetto, E. A. (2008). Virulências das raças 65, 73 e 81 de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. e determinação de fontes de resistência em *Phaseolus vulgaris* L. *Revista Brasileira de Agrociencia*, Pelotas, 14(3), 497-505.
- Sartori, L. (2016). Variabilidade genética entre genótipos de *Phaseolus vulgaris* L. quanto a resistência a Antracnose. 39 f. Monografia (Graduação), Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos.
- Silva, S. I. A. Souza, T. & Santos, D. (2017). Avaliação das trocas gasosas em genótipos de feijão fava. In: *Trocas gasosas foliares e produtividade da cultura do feijão fava*. 1. Ed. Saarbrücken, Alemanha: Novas Edições Acadêmicas, 17-33.
- Silva, S. I. A., Souza, T., Santos, D. & Silva Souza, R. F. da. (2019). Avaliação dos componentes de produção em variedades crioulas de fava cultivadas no Agreste da Paraíba. *Revista de Ciências Agrárias*, Recife, 42(3), 731-742.
- Sousa, E. S., Silva, J. R. A., Assunção, I. P., de Melo, M. P., Feijó, F. M. & Matos, K. S. d., Beserra, J. E. A. (2017). *Colletotrichum* species causing anthracnose on lima bean in Brazil. *Tropical plant pathology*, Brasília, 43(1), 78-84.
- Talamini, V. (2003). Progresso espacial e temporal da Antracnose a partir de diferentes níveis de inóculo inicial em sementes de feijoeiro. 157 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Tsutsumi, C. Y., Bulegon, L. G. & Piano, J. T. (2015) Melhoramento genético do feijoeiro: avanços, perspectivas e novos estudos, no âmbito nacional. *Nativa*, Sinop, 3(3), 217-223.
- Yamaguchi, N., Tsuji, Y., Suzuki, H., Kitabatake, T. & Yoshihira, T. (2019). Evaluation of High-Yielding Canadian Soybean Cultivars Suited to Japanese Growing Conditions. *Agrosystems, Geosciences & Environment*, Madison, 2(1), 1-6.

CAPÍTULO II

TRANSMISSÃO DE *Colletotrichum truncatum* VIA SEMENTES EM FEIJÃO FAVA

Transmissão do *Colletotrichum truncatum* via sementes em feijão fava

RESUMO

A antracnose (*Colletotrichum truncatum*) é tida como a principal doença em *Phaseolus lunatus* L. provocando perdas severas. Técnicas de inoculação são importantes para avaliações da resistência de genótipos e de métodos de controle em fases iniciais do desenvolvimento de plântulas. O trabalho teve como objetivo comparar métodos de inoculação e tempos de exposição de sementes de feijão fava à *C. truncatum*. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 5, com cinco repetições. Para isso, foram comparados os métodos de inoculação das sementes por contato direto ao micélio, contato direto ao restritor hídrico manitol, contato direto ao restritor hídrico sacarose e imersão em suspensão de conídios e, submetidas aos substratos contendo ou não o patógeno previamente desenvolvido, nos tempos de exposição de 0, 36, 60, 84 e 108 h. As avaliações foram feitas por meio da análise de severidade, incidência, índice de doença para antracnose e qualidade fisiológica de sementes, sob condições de casa de vegetação. O método de inoculação por contato direto ao restritor hídrico sacarose por 36 h foi o mais adequado para inoculação do *C. truncatum* em sementes de feijão fava, visto que proporcionou uma maior taxa de transmissão, porém afetando levemente os parâmetros fisiológicas das sementes. Os danos causados por *C. truncatum* no desempenho de sementes de feijão fava, foram crescentes com o aumento do período de exposição, independentemente do método de inoculação.

Palavras-chave: Antracnose. *Phaseolus lunatus*. Qualidade fisiológica. Restrição hídrica. Sanidade de sementes.

Colletotrichum truncatum transmission via seeds in lima bean

ABSTRACT

Anthrachnose is considered the main disease in *Phaseolus lunatus* culture causing severe losses. Inoculation techniques are important for resistance evaluation of genotypes and control methods at early stages of seedling development. The objective of this work was to compare inoculation methods and exposure times of lima bean seeds to *Colletotrichum truncatum*. We used the completely randomized factorial 4 x 5, with five replicates. For this, the methods of

inoculation of seeds by direct contact with the mycelium; direct contact on water restrictor mannitol, direct contact on water restrictor sucrose and immersion in suspension of conidia were compared and submitted to substrates containing or not the previously developed pathogen in exposure times of 0, 36, 60, 84 and 108 h. Evaluations were made by analyzing the severity, incidence, disease index for anthracnose and physiological quality seedling under greenhouse conditions. The inoculation method by direct contact with sucrose solute for 36 h is the most suitable for *C. truncatum* inoculation in lima bean seeds, since it provided a higher transmission rate, but slightly affecting the physiological parameters of the seeds. Damage caused by *C. truncatum* on lima bean seed performance is increasing with the exposure period, regardless of the inoculation method.

Key words: Anthracnose. *Phaseolus lunatus*. Physiological quality. Water restriction. Seed health.

7 INTRODUÇÃO

O fungo *Colletotrichum truncatum* (Schwein) Andrus & Moore é o agente causal da antracnose, considerada uma das doenças mais importantes do feijão fava (*Phaseolus lunatus* L.). O fungo consegue sobreviver em restos de cultura, mas é através de infestação ou infecção das sementes que ocorre a sua via de sobrevivência e disseminação mais importante, podendo servir como fonte de inóculo para infecções primárias, sobre condições de campo.

Atualmente, em feijão fava, são identificadas duas espécies de *Colletotrichum* spp.: *C. truncatum* e *C. sichuanensis*, encontradas em campos de produção no Brasil, especialmente na região Nordeste (Costa 1986; Cavalcante et al. 2019). Os sintomas da antracnose do feijão fava são caracterizados por manchas necróticas em folhas, pecíolos e vagens, cujas lesões são do tipo deprimidas, grandes e avermelhadas, sobre as quais se formam os acérvulos do fungo que apresentam-se com aspecto esbranquiçado e com numerosas setas do patógeno (Noetzold et al. 2014; Carvalho et al. 2015).

Uma das principais formas de transmissão do patógeno ocorre através das sementes. As sementes podem transportar inóculo e dar origem à epidemias em áreas agrícolas, seja associado às sementes na sua superfície, no seu interior ou misturados às mesmas, apresentando-se nas mais variadas formas de propagação, estruturas de resistência ou outras estruturas específicas dos diversos grupos de fungos, bactérias, nematóides e vírus (Santos et al. 2011).

Porém, a dificuldade de se obter sementes com diferentes níveis de infecção ou infestação, tornou a técnica de inoculação de sementes uma importante ferramenta para garantir a reprodução dos sintomas típicos das doenças e ainda possibilitar a sua aplicação em estudos

de detecção, patogenicidade, transmissão, controle e melhoramento genético de hospedeiros (Tanaka; Menten 1991).

A imersão das sementes numa suspensão de esporos, consiste no método mais simples de inoculação e usualmente utilizados (Pedroso et al., 2010). Outra técnica bastante promissora é por meio do condicionamento osmótico (restrição hídrica), conhecido também por fisiológico, sendo utilizada em tecnologia de sementes para a potencialização do processo de germinação de algumas espécies e, é também testado em metodologia de inoculação de sementes com alguns fungos e bactérias (Pedroso et al. 2010; Menezes et al. 2011). Entretanto, estas técnicas podem não fornecer as condições necessárias para que o fungo infecte as sementes, sendo necessários alguns ajustes, como o aumento do período (tempo) de contato do fungo com a semente (Rodrigues et al. 2016). Nesse sentido, torna-se fundamental a padronização de metodologias que possibilitem a transmissão e infecção de patógenos via sementes-plântulas, inoculadas artificialmente.

Tais microrganismos podem causar anormalidades e lesões nas plântulas, bem como deterioração do tecido embrionário, comprometendo a germinação e vigor das sementes e consequentemente perdas de produção. Logo, a qualidade sanitária das sementes é um dos mais importantes aspectos relacionados à produtividade, devido ao grande número de patógenos que podem estar associados a elas (Piveta et al. 2010; Moreau 2011).

A qualidade fisiológica da semente é importante para a avaliação de um lote, pois influencia diretamente sobre desempenho, taxa de emergência, emergência total das plântulas, viabilidade das sementes e manutenção do alto vigor, favorecendo uma maior velocidade nos processos metabólicos, consequentemente propiciando emissão mais rápida e uniformidade da raiz primária no processo de germinação, alta taxa de crescimento, produzindo plântulas com maior tamanho inicial e alta produtividade (Munizzi et al. 2010).

Assim, o trabalho teve como objetivo comparar métodos de inoculação e tempos de exposição das sementes de feijão fava à *C. truncatum*.

8 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, pertencente ao Laboratório de Fitopatologia, da Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia.

8.1 Obtenção de isolado e sementes

Foram utilizadas sementes de feijão fava UFPB04, oriundas de área de cultivo, no município de Remígio, Paraíba, sendo estas de hábito de crescimento determinado, conforme

Gomes e Nascimento (2018). Inicialmente, as sementes foram submetidas ao teste de germinação para análise de viabilidade (Brasil, 2009). Em seguida as amostras de sementes foram desinfestadas em solução de álcool a 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio a 1% por um minuto e realizada a tríplice lavagem em água destilada (ADE), permanecendo sob temperatura de 25 ± 2 °C para secagem.

O isolado de *C. truncatum* foi obtido através do isolamento direto, por meio da coleta de estrutura de micélio e esporos sobre a superfície das sementes. Os fragmentos foram plaqueados em meio batata, dextrose e ágar (BDA), sendo as placas de Petri mantidas em B.O.D (Biochemical Oxygen Demand) à temperatura de 28 ± 1 °C, por 7 dias. Decorrido o período de incubação, procedeu-se a visualização de estruturas microscópicas, das quais foram confeccionadas lâminas com propágulos dos fungos, em seguida observadas em microscópio óptico e identificadas conforme Seifert et al. (2011). As culturas monospóricas dos isolados foram obtidas conforme Souza et al. (2013).

8.2 Definição dos tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema de fatorial 4 x 5 (métodos de inoculação x tempos de exposição), com cinco repetições.

Na inoculação das sementes por **contato direto ao micélio** foram utilizados discos com 5 mm de diâmetro, contendo colônia pura do patógeno que foram transferidas para placas de Petri (9 cm), contendo meio de cultura BDA. As placas foram acondicionadas à temperatura de 28 ± 1 °C e sob fotoperíodo de 12 h de luz, por 14 dias, para que a colônia fúngica pudesse atingir o diâmetro total da placa. Sobre cada placa foram depositadas 30 sementes desinfestadas, distribuídas em fileiras, sendo realizada a desinfestação das mesmas anteriormente. Após a vedação das placas, procedeu-se uma agitação manual por 30 segundos, promovendo mistura das sementes com as estruturas do fungo dentro das placas. Em seguida, as sementes inoculadas foram mantidas sob condições de incubação em B.O.D, conforme descrição anterior, por 0, 36, 60, 84 e 108 h.

Para a inoculação das sementes por **contato direto ao restritor hídrico de manitol**, foi utilizado meio de cultura BDA modificado com manitol ($C_6H_{14}O_6$), no potencial osmótico -1,0 MPa, esse potencial foi obtido com adição de 46,3 g do soluto 1000 mL^{-1} de meio (Araújo et al., 2016) e colônia fúngica aos 14 dias de incubação, sob temperatura de 28 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 h em B.O.D. Foram distribuídas 30 sementes por placa Petri de 9 cm, contendo colônia fúngica sob meio BDA. Em seguida, as placas foram manualmente agitadas por 30 segundos e

mantidas sob condições de incubação, conforme descrito anteriormente, por 0, 36, 60, 84 e 108 h.

A inoculação das sementes por **contato direto ao restritor hídrico de sacarose**, deu-se de forma similar ao método com manitol, utilizando-se meio de cultura BDA modificado (restrição hídrica) com soluto de sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$), no potencial osmótico $-1,0$ MPa, contendo também o desenvolvimento da colônia fúngica, sob mesmas condições descritas anteriormente. As 30 sementes foram dispostas sobre a colônia fúngica, brevemente agitadas e incubadas em B.O.D à temperatura de 28 ± 1 °C, durante 0, 36, 60, 84 e 108 h.

Na inoculação por **imersão em suspensão de conídios** foram utilizadas sementes previamente desinfestadas, ficando imersas em suspensão de conídios de *C. truncatum* por 5 minutos, permanecendo sob incubação à 0, 36, 60, 84 e 108 h dentro de placas de Petri contendo dupla camada de papel filtro, após inoculação. Para isso, utilizaram-se colônias fúngicas cultivadas em meio BDA por 14 dias à temperatura de 28 ± 1 °C, sob fotoperíodo de 12 h de luz em B.O.D. Após o período de incubação foram adicionados 10 mL de ADE sobre a colônia fúngica e, com auxílio de um pincel esterilizado, homogeneizou-se a massa de esporos contida nas placas. Posteriormente, foram utilizados 25 mL da suspensão, contendo 1×10^4 conídios mL⁻¹, quantificadas em hemacitômetro, em seguida feito a imersão de 30 sementes por suspensão. As sementes permaneceram imersas na suspensão por 5 min, sendo drenado o excedente de água e postas sobre dupla camada de papel filtro em placas de Petri (9 cm), fechadas e mantidas sob condições de B.O.D.

Em todos os métodos de inoculação testados no período 0 h (testemunha) utilizaram-se sementes desinfestadas e não inoculadas. Para as colônias fúngicas usadas para os diferentes métodos de inoculação foram mantidas em incubação à temperatura de 28 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 h, por 14 dias. Após a inoculação, as sementes foram retiradas das placas e realizou-se a semeadura na profundidade de 1 cm, em vasos com capacidade de 1,5 L, contendo substrato turfa, vermiculita e palha de arroz (2:1:1), antes realizado o cálculo de 60% da capacidade hídrica do substrato para a primeira irrigação, seguindo turno de regas a cada 72 h. Os vasos foram mantidos sob condições de casa de vegetação, distribuídas em cinco repetições de cinco sementes por vaso. As avaliações foram realizadas no período de 3 a 15 dias após a semeadura (DAS).

8.3 Teste de transmissão do *C. truncatum*

A **severidade da antracnose em caules**, oriundas das sementes de feijão fava inoculadas foi avaliada aos 3, 6, 9, 12 e 15 DAS, atribuindo-se notas de 1 a 3 para plântulas

infectadas, onde: 1 = ausência de sintomas; 2 = sintomas de clorose ou necrose, com e sem paralisação do crescimento e 3 = plântulas mortas, verificando-se a partir das lesões presentes nos caules dos diferentes tratamentos, sob condições de casa de vegetação, conforme escala de Raoof e Rao (1996). Para avaliação da **severidade da antracnose em plântulas**, oriundas das sementes de feijão fava inoculadas, também foi adotado o mesmo período, descrito anteriormente, atribuindo-se notas de 0 a 6 para plântulas infectadas, onde: 0 = sem sintomas; 1 = lesão no coleto de até 1 cm (superficial); 2 = lesão no coleto maior que 1 cm (deprimida); 3 = pontuações, mancha necrótica, lesão no pecíolo; 4 = perfurações na folha; 5 = morte do meristema apical; 6 = plântula em colapso parcial e/ou total (morte), conforme adaptado de Souza et al. (2014).

Os valores de severidade da antracnose em plântulas foram utilizados para o cálculo da **área abaixo da curva de progresso da doença**, conforme Campbell e Madden (1990). Assim como, o cálculo do **índice de doença** foi avaliado ao final do experimento. Os dados foram ajustados aplicando-se a fórmula descrita por Erkilic et al. (2006). Para determinar a **taxa de transmissão**, utilizou-se a fórmula de Teixeira e Machado (2003).

A incidência da doença foi avaliada ao final do experimento, através da observação da existência dos **sintomas da doença em folhas, caules e tombamento** de plântulas, sendo os resultados expressos em porcentagem.

8.4 Teste de qualidade fisiológica

A **altura de plântulas** foi avaliada com base no comprimento de plântulas ao final do ensaio por meio da medição de plântula normal, aquela sem danos na raiz e hipocótilo, sendo possível diferenciar a região de transição entre elas em cada repetição, com auxílio de uma régua graduada e, os resultados expressos em $\text{cm} \cdot \text{plântulas}^{-1}$.

Os pesos da **massa seca da parte aérea, raiz e total** foram obtidos por meio do corte transversal na altura do colo das plântulas com o auxílio de um bisturi e levadas à estufa termoelétrica de circulação forçada de ar a 70 ± 2 °C, durante 48 h. As amostras foram colocadas para esfriar em dessecador e sua massa determinada em balança de precisão 0,001 g, tendo os resultados expressos em g plântula^{-1} .

Na avaliação final registraram-se também o percentual de **sementes duras e sementes mortas**. Para avaliação das sementes duras, as que não emergiram foram pressionadas com auxílio de uma pinça, sendo consideradas duras aquelas que resistiram à pressão, como consequência da não absorção de água e as que desintegraram foram consideradas mortas, sendo os resultados expressos em porcentagem (Brasil, 2009).

8.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e, de acordo com a significância do teste F, as médias dos métodos de inoculação dentro de cada tempo de exposição e dos tempos exposição para cada método de inoculação foram comparadas pelos testes de Tukey e F, respectivamente para $p \leq 0.05$.

Para o efeito dos dias de avaliação, foi aplicada análise de regressão polinomial, considerando-se modelos de até o 2º grau e $R^2 \geq 60\%$. Foi utilizado o software R® (Core Team 2018).

9 RESULTADOS

9.1 Transmissão do *C. truncatum*

As variáveis independentes, métodos de inoculação e horas após infecção, nos dias após a semeadura (DAS), apresentaram interação significativa ($p \leq 0.01$), para os valores de notas atribuídas a severidade da doença em caule e plântulas (Tab. 1), confirmando-se a transmissão de *C. truncatum*, via sementes para a plântula de feijão fava.

Tab. 1 - Severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em caules e plântulas de feijão fava, variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), aos 3, 6, 9, 12 e 15 dias após a semeadura (DAS).

MI	h	Caule					Plântula				
		3	6	9	12	15	3	6	9	12	15
1	0	1bA	1 cA	1 cA	1 bA	1 bA	0 cA	0 cA	0 cA	0 cA	0 cA
1	36	1.8 aB	2.2 aAB	2.2 aAB	2.6 aA	2.8 aA	3.4 aA	3.4 aA	5 aA	5 aA	5 aA
1	60	1.8 aA	2 abA	2.2 aA	2.2 bA	2.4 aA	2.6 abA	2.6 abA	2.6 bA	3.4 abA	3.4 aA
1	84	1 bA	1.2 cA	1.2 bcA	1.2 bA	1.8bA	1.4abcA	1.4 abcA	1.4 bcA	1.4bcA	1.4 bcA
1	108	1 bC	1.4 bcBC	1.8 abB	2.8 aA	2.8 aA	1.2 bcB	1.2 bcB	3.4 abA	3.4 abA	3.8 aA
2	0	1 bA	1bA	1 bA	1 cA	1 cA	0 bA	0 bA	0 bA	0 cA	0 cA
2	36	2.2 aA	2.2 aA	2.2 aA	2.2abA	2.2abA	3.8 aA	3.8 aA	3.8Aa	4.2 aA	4.2 aA
2	60	2 aA	2 aA	2 aA	2abA	2.2abA	1.2bA	1.2 bA	1.2 bA	2.2 abA	2.6 abA
2	84	1 bB	1 bB	1 bB	1.8 bA	1.8 bA	0bB	0bB	0bA	0.4 bcA	0.4 bcA
2	108	1.8aB	1.8 aB	2 aAB	2.6 aA	2.6 aA	1 bB	3.8aA	3.8aA	3.8aA	3.8aA
3	0	1 bA	1 bA	1 bA	1bA	1 bA	0 bA	0 bA	0 cA	0 cA	0 cA
3	36	1 bB	1 bB	2 aA	2aA	2aA	0bB	2.2aA	2.2 bcA	2.2 bA	2.2 bA
3	60	1.6 abA	1.8aA	2 aA	2aA	2.6 aA	3.2 aB	3.2 aB	5.4aA	5.4 aA	5.8aA
3	84	1.8 aB	1.8 aB	2.6 aA	2.6 aA	2.6 aA	2.4 aA	2.4 aA	3.8 abA	3.8 abA	3.8 abA
3	108	1.6 abA	1.8 aA	2.2 aA	2.2aA	2.2aA	2.8 aA	2.8 aA	3.0bA	3.4 abA	3.4 bA
4	0	1 aA	1 bA	1 bA	1 cA	1 cA	0 bA	0 cA	0 cA	0 cA	0 cA
4	36	1 aB	1.8 aA	2 aA	2abA	2abA	1.8abA	1.8abcA	3.4 abA	3.4 abA	3.8 abA
4	60	1aB	2 aA	2 aA	2abA	2abA	2.2 aA	2.2 abA	2.2 abA	2.2bA	2.2bA
4	84	1 aB	2 aA	2 aA	2.2aA	2.4 aA	2.4aB	3.4 aAB	3.8 aAB	5.4 aA	5.4 aA
4	108	1.4 aA	1.4 abA	1.4abA	1.4bcA	1.4bcA	0.4 abC	0.6 bcC	1.4 bcAB	3.4 abA	3.4 abA
cv.		26.4%					56.03%				

*Médias seguidas por diferentes letras, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). MI= métodos de inoculação por contato direto ao micélio (1); contato direto ao restritor hídrico de manitol (2); contato direto ao restritor hídrico de sacarose (3) e imersão em suspensão de conídios (4); h= tempos de exposição (horas)

Aos 6 DAS foi possível observar sintomas de clorose e necrose, característicos da antracnose em todos os tratamentos, exceto para os métodos de inoculação por contato direto ao restritor hídrico de manitol (2) a 84 h de exposição e por contato direto ao restritor hídrico de sacarose (3) por 36 h, assim como a testemunha, quando avaliada a severidade por caule (Tab. 1).

Ao analisar a severidade por plântula, pôde-se perceber que todos os tratamentos apresentaram sintomas da antracnose, com exceção do método por contato direto ao restritor hídrico de manitol à 84 h para este mesmo período de avaliação (Tab. 1). As sementes expostas ao fungo em contato direto ao micélio por 36 h de exposição, destacaram-se entre tratamentos com maior média de severidade em caule (Tab. 1). Houve variação quanto aos sintomas apresentados com lesões cloróticas, necróticas até a morte de plântulas.

O método por imersão das sementes em suspensão por 108 h de infecção, apresentou a menor média da severidade em caules (Tab. 1), não diferindo estatisticamente da testemunha. Aos 15 DAS a severidade da antracnose em plântulas no contato direto ao restritor hídrico de sacarose por 60 h, seguido pelos métodos de contato direto ao micélio e imersão em suspensão de conídios por 36 e 84 h de exposição, respectivamente, em que apresentaram os maiores valores de severidade da antracnose em plântulas e, foram considerados os mais agressivos dentre os tratamentos (Tab. 1).

Os primeiros sintomas da antracnose nas folhas foram observados a partir do terceiro DAS, variando de menos 1% a 50% da área foliar infectada. Apenas o método de inoculação por contato ao restritor hídrico de manitol por 84 h de infecção não diferiu estatisticamente da testemunha, apresentando plântulas assintomáticas (Tab. 1).

Foi observada interação significativa ($p \leq 0,01$) entre os métodos de inoculação *versus* tempos de exposição, tendo para a última avaliação o modelo de regressão quadrático ajustado em função das variáveis, área abaixo da curva de progresso da doença, índice de doença e taxa de transmissão (Fig. 1).

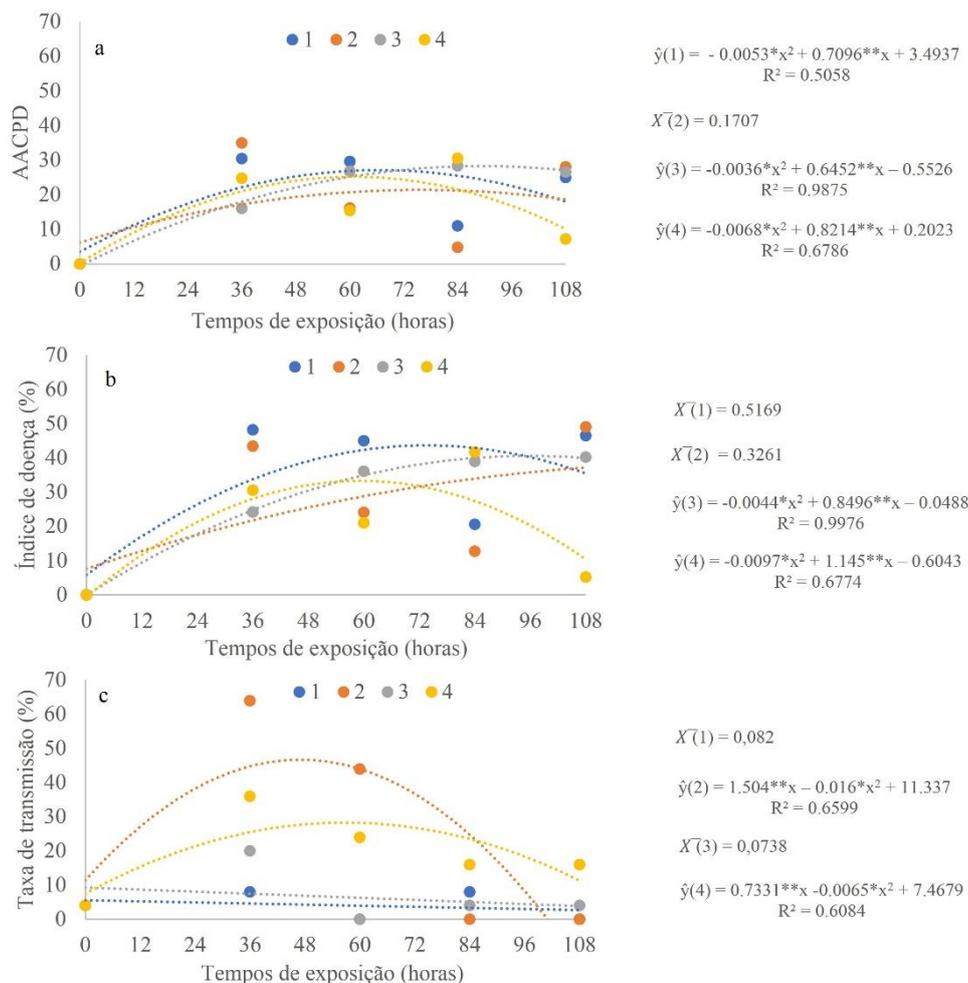


Fig. 1 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (a), índice de doença (b) e taxa de transmissão (c) em feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), inoculadas com *Colletotrichum truncatum*, por contato direto ao micélio (1), contato direto ao restritor hídrico de manitol (2), contato direto ao restritor hídrico de sacarose (3) e imersão em suspensão de conídios (4), sobre tempos de exposição, aos 15 dias após a semeadura. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente.

Quanto à área abaixo da curva de progresso da doença, foi verificado efeito significativo ($p \leq 0.01$) para métodos de inoculação *versus* tempos de exposição, em que para a última variável dependente obteve-se o modelo de regressão quadrático ajustado (Fig. 1a), exceto para o método de contato direto ao restritor hídrico de manitol.

A partir do tempo de exposição de 60 h no método de contato direto ao restritor hídrico de sacarose, permitiu uma maior média de área abaixo da curva de progresso da doença entre os tratamentos, diferindo estatisticamente (Fig. 1a). Foi verificada maior média de área abaixo da curva de progresso da doença no contato direto ao restritor hídrico de manitol por 36 h. Valores intermediários foram obtidos com os tratamentos por contato direto ao restritor hídrico de sacarose, a partir de 60 h de infecção e imersão em suspensão de conídios, exceto no tempo de exposição de 108 h, em que corresponde com um dos menores valores de área abaixo da

curva de progresso da doença. Verificou-se mesmo comportamento no tempo de 84 h por contato direto ao restritor hídrico de manitol e, não diferindo da testemunha (Fig. 1a).

Com relação ao índice de doença (ID), observou-se diferença significativa ($p \leq 0.01$) entre os fatores tempos de exposição *versus* métodos de inoculação (Fig. 1b). Foi ajustado o modelo de regressão quadrático para os métodos de inoculação por contato direto ao restritor hídrico de sacarose e imersão por suspensão de conídios, considerando-se a última variável dependente. As sementes expostas ao patógeno pelos métodos de contato direto ao micélio e contato direto ao restritor hídrico de manitol a partir de 36 h, seguidos pelos métodos de contato direto ao restritor hídrico de sacarose e imersão em suspensão de conídios à 84 h de exposição, possibilitaram maior índice de doença, quando comparado aos demais tratamentos (Fig. 1b). O tratamento com suspensão por 108 h de infecção, apresentou o menor percentual de índice de doença entre os tratamentos, não diferindo estatisticamente da testemunha (Fig. 1b).

Com relação à taxa de transmissão de *C. truncatum*, via sementes, observa-se efeito significativo ($p \leq 0.01$), na interação entre tempos de exposição *versus* métodos de inoculação. Os métodos de inoculação por contato direto ao restritor hídrico de manitol e imersão em suspensão de conídios, ajustaram ao modelo de regressão quadrático, considerando-se a última variável dependente (Fig. 1c). No método por contato direto ao micélio apenas a 36 h e 84 h de exposição, ocorreu a transmissão da antracnose, constatando-se valor superior ao da testemunha, mas não diferiram estatisticamente entre si (Fig. 1c).

A inoculação por contato direto ao restritor hídrico de manitol nos tempos de 36 e 60 h, de exposição, apresentaram os maiores percentuais de transmissão, com valores médios de 64% e 44%, respectivamente, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos e da testemunha (Fig. 1c). Os valores revelados nesse método para os tempos de 84 e 108 h de exposição das sementes, não houve transmissão da antracnose (Fig. 1c). Para todos os tempos de exposição, por contato direto ao restritor hídrico de sacarose, verificou-se a ocorrência da transmissão, apenas no tempo de 60 h exposição, não permitiu a transmissão da antracnose (Fig. 1c), como não diferiram significativamente da testemunha. No método de inoculação por imersão em suspensão de conídios, pôde-se verificar a transmissão da doença, independente do tempo de exposição, onde o valor de transmissão da antracnose foi de 36%, destacando entre os demais tratamentos (Fig. 1c). As sementes inoculadas por contato direto ao micélio à 108 h, por contato direto ao restritor hídrico de manitol a partir de 84 h e de sacarose à 60 h, proporcionaram valores de 0 e 4% respectivamente, não diferindo da testemunha (Fig. 1c).

Na avaliação da incidência de caules doentes, houve diferença significativa ($p \leq 0.01$) na interação entre os fatores tempos de exposição *versus* métodos de inoculação, verificando-se o modelo de regressão quadrático ajustado nos métodos de contato direto ao restritor hídrico de manitol e imersão em suspensão de conídios em relação à última variável dependente (Fig. 2a).

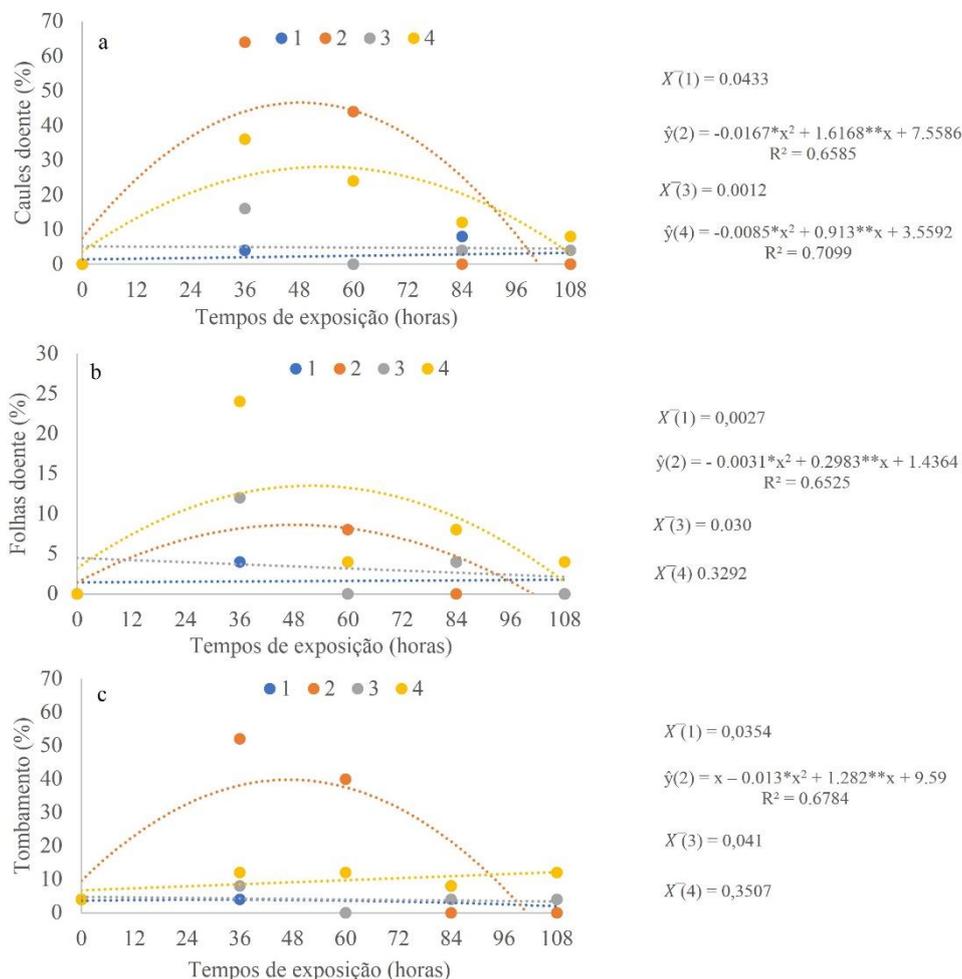


Fig. 2 - Percentuais de caules doentes (a), folhas doentes (b) e tombamento de plântulas (c) de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), inoculadas com *Colletotrichum truncatum*, por contato direto ao micélio (1), contato direto ao restritor hídrico de manitol (2), contato direto ao restritor hídrico de sacarose (3) e imersão em suspensão de conídios (4), sobre tempos de exposição, aos 15 dias após a sementeira. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente.

O máximo valor incidente por caules doentes foi observado ao contato direto ao restritor hídrico de manitol por 60 h, seguido pelo método de imersão em suspensão de conídios à 36 h (Fig. 2a). No entanto, a partir de 84 h de exposição, houve menor incidência de caules doentes, independentemente do método de inoculação, não diferindo estatisticamente da testemunha (0h). Neste intervalo de tempo apenas o método de imersão por suspensão de conídios, atingiu 8% de caules doentes, comparando-se aos demais tempos de exposição no mesmo método avaliado (Fig. 2a).

Em relação a incidência de folhas doentes, observou-se efeito significativo ($p \leq 0.01$), entre os períodos de exposição, onde o modelo de regressão quadrático foi ajustado apenas os métodos de inoculação por contato direto ao restritor hídrico de manitol (Fig. 2b).

Todos métodos de inoculação no período de 36 h, favoreceram os maiores percentuais de incidência do patógeno nas folhas, diferindo ($p \leq 0.01$) em relação à testemunha (Fig. 2b). A inoculação por imersão em suspensão de conídios e contato direto ao restritor hídrico de manitol à 36 h, apresentou os maiores percentuais de folhas infectadas, atingindo cerca de 24%, diferindo estatisticamente dos demais períodos de exposição (Fig. 2b). As sementes inoculadas pelo método de contato direto ao micélio, contato direto ao restritor hídrico de manitol e sacarose à 108 h, proporcionaram menores percentuais de folhas doentes, igualando-se a testemunha (Fig. 2b).

Para o percentual de tombamento de plântulas em pós-emergência, foi verificado efeito significativo ($p \leq 0.01$) entre métodos de inoculação *versus* tempos de exposição, teve o modelo de regressão quadrático ajustado para a variável quantitativa em relação ao método por contato direto ao restritor hídrico de manitol (Fig. 2c). Verifica-se que nos períodos de exposição por 36 e 84 h a inoculação por contato direto ao micélio apresentou 4% e 8%, respectivamente e mesmo com valores superiores aos demais tratamentos, não diferiram entre si (Fig. 2c).

Os tempos de exposição 36 e 60 h no método de contato direto ao restritor hídrico de manitol, proporcionaram maiores percentuais de tombamento de plântulas, diferindo ($p \leq 0.01$) entre os tratamentos e da testemunha (Fig. 2c). Não houve diferença estatística entre os tempos de exposição para o método de contato direto ao restritor hídrico de sacarose, no entanto, apenas no tempo de 60 h de exposição não ocorreu tombamento das plântulas de feijão fava (Fig. 2c).

Ao analisar o método de imersão em suspensão de conídios em função dos tempos de exposição, verificou-se 8 a 12% de incidência de tombamento, sem diferir estatisticamente entre si e em relação à testemunha (Fig. 2c). Por outro lado, as sementes inoculadas por contato direto ao micélio e contato direto ao restritor hídrico de manitol, com 108 h de exposição, não apresentaram tombamentos, não diferindo estatisticamente da testemunha (Fig. 2c).

9.2 Qualidade fisiológica

Para altura plântula, aos 15 dias após a semeadura, foi observado efeito significativo ($p \leq 0.01$) na interação entre tempos de exposição e métodos de inoculação (Fig. 3a). Independente das horas de exposição, todos os tratamentos tiveram o modelo de regressão quadrático ajustado, exceto para o método de contato direto ao micélio e ao restritor hídrico de manitol, onde o modelo linear foi adotado para esta variável (Fig. 3a).

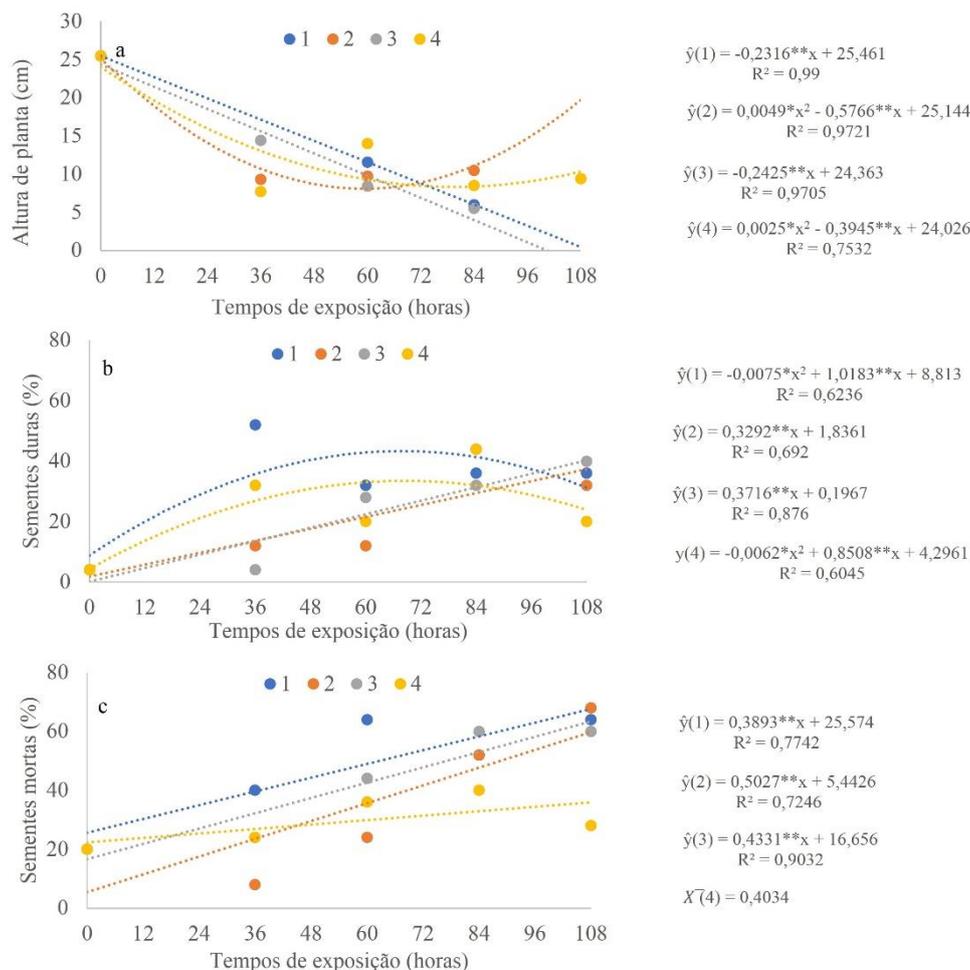


Fig. 3 - Altura de plântula (a), percentuais de sementes duras (b) e sementes mortas (c) de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), inoculadas com *Colletotrichum truncatum*, por contato direto ao micélio (1), contato direto ao restritor hídrico de manitol (2), contato direto ao restritor hídrico de sacarose (3) e imersão em suspensão de conídios (4), sobre tempos de exposição, aos 15 dias após a semeadura. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente.

O método de inoculação por contato direto ao micélio provocou a inibição total do desenvolvimento de órgãos de parte aérea, nos diferentes tempos de exposição e diferiram estatisticamente da testemunha (Fig. 3a).

Os tratamentos por contato direto ao restritor hídrico de manitol à 36 e 60 h de exposição e por contato direto ao restritor hídrico de sacarose à 60 h, diferiram significativamente da testemunha (Fig. 3a). O tratamento por contato direto ao restritor hídrico de sacarose por 36 h, proporcionou maior altura de plântulas em comparação aos demais tratamentos e, não diferindo da testemunha (Fig. 3a), possibilitando um ótimo desempenho de plântulas normais emergidas, sob inoculação artificial. As sementes inoculadas pelo método de suspensão nos diferentes tempos de exposição, proporcionaram plântulas menos vigorosas (Fig. 3a).

Para o percentual de sementes duras e mortas, ocorreu interação significativa ($p \leq 0.01$) entre métodos de inoculação *versus* tempos de exposição e, foi ajustado o modelo de regressão

linear e quadrático, em função de tempos de exposição das sementes (Fig. 3b, c). Verificou-se que todos os tratamentos interferiram negativamente na emergência de plântulas, proporcionando percentuais superiores à testemunha para sementes duras, com exceção do tratamento por contato direto ao restritor hídrico de sacarose por 36 h de exposição, que apresentou menor percentual (4%), não diferindo da testemunha (Fig. 3b). No entanto, o tratamento por contato direto ao micélio por 36 h proporcionou maior percentual de sementes duras (52%), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos e, da testemunha (Fig. 3b).

Foi observado efeito negativo sobre emergência de plântulas, em decorrência dos métodos de inoculação, independentemente do tempo de exposição, sendo o percentual de sementes mortas superiores à testemunha, exceto o tratamento por contato direto ao restritor hídrico de manitol por 36 h de exposição, com menor percentual de sementes mortas (8%). A partir de 60 h de exposição todos os métodos de inoculação proporcionaram maiores percentuais de sementes mortas, atingindo valores de 28,5 a 68% e, diferindo estatisticamente da testemunha (Fig. 3c).

Para as variáveis de massa seca da parte aérea, da raiz e total no estande final (Fig. 4), houve interação significativa ($p \leq 0.01$) para os fatores métodos de inoculação *versus* tempos de exposição e, o fator quantitativo teve-se o modelo de regressão linear e quadrática ajustada, conforme a última variável dependente (Fig. 4).

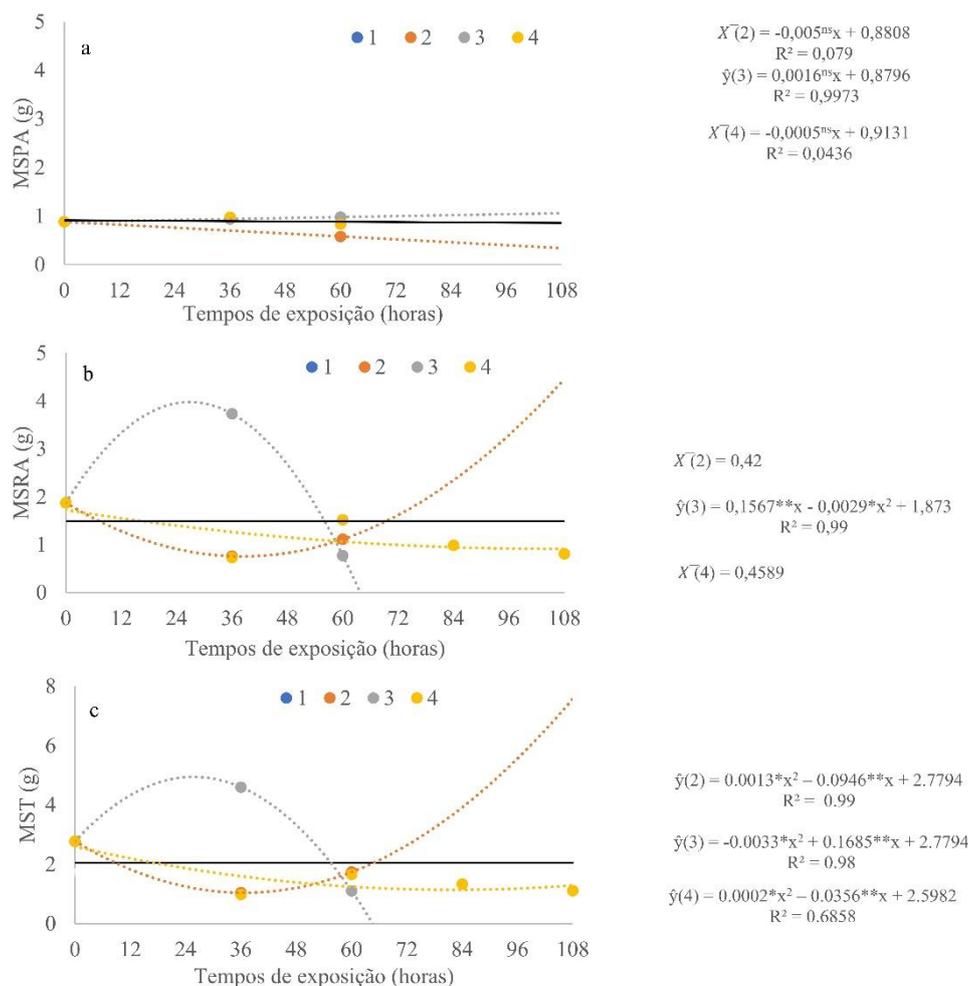


Fig. 4 - Massa seca da parte aérea (MSPA) (a), massa seca da raiz (MSR) (b) e massa seca total (MST) (c) de plântulas de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), inoculadas com *Colletotrichum truncatum*, por contato direto ao micélio (1), contato direto ao restritor hídrico de manitol (2), contato direto ao restritor hídrico de sacarose (3) e imersão em suspensão de conídios (4), sobre tempos de exposição, aos 15 dias após a semeadura. * e **significante em até 5% e 1% pelo teste F respectivamente.

Similarmente aos resultados obtidos na avaliação da altura de plântulas normais, não foi possível quantificar a massa seca da parte aérea, da raiz e total, sobre contato direto ao micélio, independentemente do tempo de exposição das sementes, sendo estes responsáveis pela inibição total dos órgãos de parte aérea e raiz, diferindo ($p \leq 0,01$) da testemunha, apresentando os valores médios de massa seca de parte aérea de 0,78 g, de 1,85 e 2,63 g para as variáveis de massa seca da raiz e total, respectivamente (Fig. 4).

Os tratamentos por contato direto ao restritor hídrico de manitol de 36 e 60 h e por sacarose à 60 h de exposição, permitiram o desenvolvimento de parte aérea e raiz, mas apresentaram uma leve redução no peso de massa seca da parte aérea, raiz e total, diferindo-os apenas da testemunha (Fig. 4). O tratamento por contato direto ao restritor hídrico de sacarose à 36 h de exposição, permitiu um incremento de significativo de 15,2%, 43,9% e 42,7% para massa seca da parte aérea, raiz e total de plântulas normais, respectivamente. (Fig. 4). As

sementes inoculadas por suspensão, independente dos tempos de exposição, proporcionaram o desenvolvimento de órgãos de parte aérea e raiz, no entanto, apresentam menores valores para massa seca da parte aérea, raiz e total, comparados à testemunha (Fig. 4).

Os diferentes métodos de inoculação foram empregados em analogia às condições de estudo existentes na literatura com o gênero *Phaseolus* e, a partir dessa simulação, foram observadas alterações distintas para o aspecto de qualidade das sementes de *P. lunatus*, dependente do tempo de exposição em cada método de inoculação (Figuras 3 e 4).

10 DISCUSSÃO

Mota et al. (2019) verificaram a transmissão de *C. truncatum* por sementes de feijão fava, com sintomas da doença em cotilédones, caules e folhas, com percentual máximo de 96,8%, 60% e 94,2%, respectivamente, a partir de 7 dias após semeadura (DAS). Estas se tornaram mais severas aos 14 e 21 DAS, provenientes de sementes inoculadas por diferentes potenciais osmóticos com manitol, não diferindo estatisticamente entre os tratamentos, corroborando com a presente pesquisa.

Carmo et al. (2015) ao avaliarem a reação de variedades de feijão fava a *C. truncatum*, constataram aparecimento dos primeiros sintomas aos 5 DAI, assim como Gomes e Nascimento (2018), que também registraram o progresso da doença com queda de folhas de um ou mais folíolos aos 7 DAI. No entanto, o presente estudo revela uma antecipação dos sintomas da doença, tanto por caule e com por plântulas (Tab. 1), com aumento da severidade da doença com o passar do tempo.

Os resultados de área abaixo da curva de progresso da doença contrariam os observados por Yesuf e Sangchote (2005) ao evidenciarem que a relação entre o nível de infecção de sementes por *C. lindemuthianum* e sua transmissão em plântulas de feijoeiro, onde as sementes inoculadas não apresentaram nenhum sintoma nas mudas em de casa de vegetação. No entanto, os autores concluíram que a infecção de sementes é a principal fonte de infecção primária do *C. lindemuthianum* via sementes de feijoeiro.

Yesuf e Sangchote (2005) conduziram estudos de estádios de crescimento de duas variedades de feijoeiro, sob diferentes níveis de infecção de sementes e cultivadas em três locais diferentes, onde obtiveram respostas similares também as encontradas no patossistema feijão fava e *C. truncatum* para variável resposta área abaixo da curva de progresso da doença.

Basso et al. (2015) ao analisarem área abaixo da curva de progresso da doença em folhas de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] verificaram resultados semelhantes aos da antracnose do feijão fava, sendo submetidas aos mesmos métodos de inoculação, porém não foram observadas

diferenças significativas, independentemente do tempo de exposição à *C. truncatum*. Para os autores, isso pode ter ocorrido pela baixa severidade da antracnose, devido à reduzida concentração do inóculo no local, pois utilizaram-se sementes certificadas, sendo provável que o inóculo estivesse presente em baixas concentrações ou que estivesse ausente.

Ao relacionar a severidade da antracnose, observa-se um aumento no índice de doença para todos os métodos de inoculação (Fig. 1b), atingindo valores máximos na medida em que se estenderam o tempo de exposição ao fungo. Estes resultados corroboram com Barrocas et al. (2014), onde o aumento do índice de doença em plântulas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), na presença de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, foi proporcional ao aumento do tempo de duração do estresse hídrico inicial, culminando com um máximo de 40%, sendo levemente inferior a este estudo. Sousa et al. (2008) também avaliando o índice de doença em plântulas de algodoeiro inoculadas com diferentes isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, encontraram valores entre 26 a 88%, sob efeito de métodos de inoculação por contato direto ao restrição hídrica de manitol, imersão em suspensão de conídios e contato direto ao micélio, considerando-se um percentual bem superior ao presente estudo (Fig. 1b).

Mota et al. (2019) verificaram percentuais aproximados de 59% à 70% da incidência de sintomas da antracnose em caules e folhas de feijão fava entre as sementes inoculadas por contato direto ao micélio e contato direto ao restritor hídrico manitol, aos 14 dias DAS. Migliorini et al. (2017) constataram valores máximos de 33% e 60% dos sintomas da doença no hipocótilo de feijoeiro, a partir de sementes inoculadas com *C. lindemuthianum* por imersão em suspensão de conídios e contato direto ao micélio, não sendo observados sintomas da antracnose na testemunha. Em folhas foram observadas lesões necróticas ao longo das nervuras na parte inferior da folha, cuja incidência variou de 88 a 89% entre os métodos de inoculação, diferindo apenas em relação a testemunha que apresentou 11% de incidência nas folhas. Para esses autores, os resultados demonstraram que *Colletotrichum* sp. apresentava uma incidência natural de 0,5% antes da desinfestação, sendo eficiente na transmissão via sementes de feijão comum, mesmo em baixas porcentagens, o que não foi verificado com *C. truncatum* nas sementes de feijão fava (Fig. 1f).

Com relação ao tombamento de plântulas, antes submetidas à inoculação por imersão em suspensão de conídios, nos diferentes tempos de exposição, assemelharam-se aos obtidos por Begum et al. (2010), que verificaram o percentual médio de 10% para tombamento de plântulas em pós-emergência de soja, em que as sementes também foram submetidas à inoculação por imersão em suspensão de *C. truncatum*.

Mota et al. (2019) avaliando a transmissão de *C. truncatum* em sementes de feijão fava, constataram o ponto de máxima infecção e transmissão, atingindo de 9% e 83.1%, respectivamente, considerando-se no cálculo as sementes inoculadas por contato direto ao micélio, após 48 h de exposição. Pereira et al. (2014) constataram a eficiência da técnica de restrição hídrica de manitol na inoculação de *C. truncatum* em sementes de soja, atingindo cerca de 40% de transmissão do patógeno nas sementes. Machado et al. (2001), utilizando a restrição hídrica de manitol para inoculação de sementes de soja com *C. truncatum*, verificaram eficiência dessa técnica com quase 100% de transmissão após a incubação das sementes.

Para Rey et al. (2009) mesmo ocorrendo uma pequena variação entre os valores das taxas de transmissão de *C. lindemuthianum* via sementes, o fungo mostrou um significativo poder de transmissão que variaram de 70 à 80%, mesmo as sementes com pouco tempo em contato com o fungo e este não cobrindo 100% da área total das sementes inoculadas.

Diante dos resultados obtidos, presume-se que a transmissão de *C. truncatum* por meio de sementes de feijão fava foi eficiente, podendo resultar em percentual de transmissão maior ou menor, dependendo do método de inoculação e/ou tempo de exposição.

Flávio et al. (2014) consideram que as sementes representam um meio eficiente de sobrevivência e disseminação de fitopatógenos para novas áreas, resultando em perda de produtividade e, conseqüentemente aumento significativo nos custos de produção. Os métodos de inoculação por contato direto ao restritor hídrico de manitol, sacarose e imersão em suspensão de conídios são eficientes na transmissão do *C. truncatum* via sementes de feijão fava. A inoculação de *C. truncatum* em meio contendo restritor hídrico de sacarose no tempo de 36 h e manitol a 60 h possibilitam maiores percentuais de transmissão, com menor comprometimento do estande final das plântulas.

Rey et al. (2009) demonstraram que *C. lindemuthianum* também alterou negativamente a altura de plântulas de feijoeiro, sob efeito dos patógenos, tendo variações de médias entre 5.65 a 6.87 cm de comprimento, enquanto que a testemunha (sem inoculação) demonstrou uma média superior de 10.3 cm, sugerindo que o fungo, mesmo reduziu aproximadamente 38% no comprimento de raiz.

Comparando-se os resultados obtidos nesta pesquisa, houve similaridade com Teixeira e Machado (2003), que também observaram decréscimo para altura de plântulas com cerca de 40.7%, com inoculação de *Acremonium strictum*, por contato direto ao restritor hídrico manitol à 120 h de exposição das sementes de milho (*Zea mays* L.).

A matéria seca da parte aérea, também apresentou resultados semelhantes aos comprimentos de planta no estande final (Figuras 3a e 4a). Os resultados obtidos diferem de

Migliorini et al. (2017) pois a variável massa seca de parte aérea, nos diferentes métodos de inoculação por contato direto ao micélio, discos de micélio e imersão em suspensão de conídios de *C. lindemuthianum* não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos, obtendo-se médias entre 0.083 a 0.094 g de massa seca de parte aérea, considerando-se inferiores aos encontrados nesse estudo (Fig. 4). O mesmo foi observado por Pereira et al. (2014) ao estudarem sementes de soja inoculadas com *C. truncatum* e Rey et al. (2009) em plântulas de feijoeiro oriundas de sementes inoculadas com diferentes raças de *C. lindemuthianum*.

Similar aos estudos de Barrocas et al. (2014), os efeitos do aumento do tempo de restrição hídrica e da presença de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* sobre a massa seca da parte aérea seguiram a mesma tendência para ambos tempos de exposição testados neste trabalho. Para os autores, o peso de massa seca da parte aérea foi menor para as sementes que estavam infectadas quando comparada as não infectadas, confirmando os efeitos prejudiciais da associação desse patógeno com sementes de algodoeiro.

Para Machado Neto et al. (2006) e Custódio et al. (2009) em relação a massa seca de raiz, as plântulas sofreram interferência da diminuição de água, reduzindo sob estresse hídrico durante a germinação e o vigor das sementes de feijão comum submetidas a diferentes soluções osmóticas.

Coelho et al. (2010) observaram redução nos valores de massa seca da parte aérea de feijão comum, na medida em que utilizaram as soluções de restrição hídricas manitol e cloreto de cálcio, ambas sob potencial de -1.2 MPa, quando comparada à testemunha (sob potencial de 0 MPa). Os autores verificaram o feito contrário dessa solução sob mesmo potencial, aos valores de massa da raiz, fato esse relacionado com a concentração de mitoses nas células da raiz, as quais poderiam estar sendo estimuladas pelo cálcio, pois as outras soluções apresentaram resultados análogos entre si.

Resultados semelhantes quanto ao que ocorreu na redução na massa seca total (Fig. 4c), foram verificados por Coelho et al. (2010) ao estudarem o estresse hídrico com solução de manitol, sob potencial osmótico menor (-1.61 MPa) em sementes de feijoeiro comum e expressão diferencial de proteínas durante a germinação.

A restrição hídrica utilizada no método de contato das sementes restringe a disponibilidade de água, que é um componente elementar nos processos fisiológicos das plantas e se faz ainda mais necessária nos períodos iniciais de desenvolvimento, além disso, para os autores o aumento do tempo de contato com o patógeno pode ter desfavorecido o desempenho das plântulas de feijoeiro (Sousa et al. 2000; Botelho et al. 2013; Reis et al. 2014). Contudo, as técnicas de restrição hídrica, da maneira como vem sendo utilizadas e os métodos de inoculação

de sementes possibilitam diferentes níveis de inóculo de acordo com o tempo de exposição da semente ao patógeno.

Para Galli et al. (2007), a inoculação de *C. truncatum* em sementes de soja pelo método de contato direto ao micélio à 40 h de exposição, provocou morte das sementes, reduzindo consequentemente número de plântulas de soja no estande final. Para os autores o maior tempo de exposição da semente ao patógeno resultou em um maior nível de inóculo nas sementes, comprometendo drasticamente o desenvolvimento do embrião. Resultados semelhantes também foram observados por Barrocas et al. (2014) em sementes de algodoeiro com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*.

De acordo com Machado et al. (2004) ficou evidenciado que para as espécies de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, o aumento do potencial hídrico do meio promoveu um aumento gradual no percentual de sementes mortas. Segundo Machado et al. (2012) o método ideal de inoculação, deve garantir a infecção das sementes e preservar de forma satisfatória seu poder germinativo para posterior utilização.

De acordo com Dhingra (2005) as sementes constituem meio de infecção eficiente para microrganismos de todos os grupos taxonômicos, patogênicos ou não e, são excelentes veículos de dispersão e fontes iniciais de inóculo no campo, sendo capazes de iniciar epidemias. Logo, as principais causas de baixo rendimento em plantios, podem estar associadas à presença de patógenos nas sementes que provocam efeitos negativos diretos sob o processo de desenvolvimento em pré e pós-emergência de plântulas.

O método de inoculação por contato direto ao restritor hídrico de manitol por 36 h foi o mais adequado para inoculação do *C. truncatum* em sementes de feijão fava, visto que proporcionou uma maior taxa de transmissão, porém afetando levemente os parâmetros fisiológicas das sementes. No entanto, os danos causados por *C. truncatum* no desempenho de sementes de feijão fava são crescentes com o aumento do tempo de exposição, independentemente do método de inoculação.

11 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil), pela concessão de bolsa.

REFERÊNCIAS

- Araújo DV, Machado JC, Pedrozo R, Pfenning LH, Kawasaki VH, Machado Neto A, Pizzato JA (2016) Transmission and effects of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* on cotton seeds. *African Journal of Agricultural* 11(20):1815-1823.
- Barrocas EM, Machado JC, Alves MC, Corrêa CL (2014) Desempenho de sementes de algodão submetidas à deficiência hídrica e presença de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. *Bioscience Journal* 30(2):421-428.
- Basso P, Bonaldo SM, Ruffato S (2015) Avaliação de fungicidas no controle de antracnose e mancha alvo, e no rendimento da cultura da soja. *Scientia Agraria Paranaensis* 14(3):191-199.
- Begum MM, Sariah M, Puteh AB, Abidin MZ, Rahman MA, Siddiqui Y (2010) Field performance of bio-primed seeds to suppress *Colletotrichum truncatum* causing damping-off and seedling stand of soybean. *Biological Control* 53(1):18-23.
- Botelho LS, Zancan WLA, Machado JC, Barrocas EN (2013) Performance of common bean seeds infected by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Seed Science* 35(2):153-160.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de análise sanitária de sementes/ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretária de Defesa Agropecuária, 1 ed. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 200p.
- Campbell CL, Madden LV (1990) Introduction to plant disease epidemiology. New York, United States of America. John Wiley & Sons.
- Carmo MDS, Carvalho EMS, Gomes RLF, Lopes ACA, Cavalcante GRS (2015) Avaliação de acessos de feijão fava, para resistência a *Colletotrichum truncatum*, em condições de folhas destacadas e campo. *Summa Phytopathologica* 41(4):292-297.
- Carvalho EMS, Beserra Jr JEA, Barguil BM (2015) Lima bean diseases. In: Ferreira, ASA, Lopes ACA, Gomes RLF (2015). *Phaseolus lunatus*: Diversity, Growth and Production. Nova Science Publishers, USA 113-133.
- Cavalcante GR, Barguil BM, Vieira WA, Lima WG, Michereff SJ, Doyle VP, Câmara MP (2019) Diversity, Prevalence, and Virulence of *Colletotrichum* Species Associated with Lima Bean in Brazil. *Plant Disease*, 102 (3): 680–680.
- Coelho DLM, de Agostini EAT, Guaberto, LM, Neto NBM, Custódio CC (2010) Estresse hídrico com diferentes osmóticos em sementes de feijão e expressão diferencial de proteínas durante a germinação. *Acta Scientiarum. Agronomy* 32(3):491-499.

- Core Team R, (2018) A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org>. Access on: 15 Jun. (2018).
- Costa AF (1986) Antracnose do feijão fava (*Phaseolus lunatus* L.) no Nordeste causada por *Colletotrichum dematium* f. sp. *truncata*. Fitopatologia Brasileira 11:315-1986.
- Costa MLN, Machado JC, Guimarães RM, Pozza EA, Oride D (2003) Inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro através de restrição hídrica. Ciência e Agrotecnologia 27(5):1023-1030.
- Custódio CC, Salomão GR, Machado Neto NB (2009) Estresse hídrico na germinação e vigor de sementes de feijão submetidas a diferentes soluções osmóticas. Revista Ciência Agronômica 40(4):617-623.
- Dhingra OD (2005) Teoria da transmissão de patógenos fúngicos por sementes. In: Zambolim, L. Sementes: qualidade fitossanitária. Viçosa: UFV, pp.75-104.
- Erkilic A, Guven B, Akgul DS (2006) Effects of some plant activators and plant materials on stem rot disease of peanut and pepper caused by *Sclerotium rolfsii*. Journal of Turkish Phytopathology, 35(1-3):15-28.
- Galli JA, Panizzi C, Vieira RD (2007) Resistência de variedades de soja à morte de plântulas causada por *Colletotrichum truncatum*. Arquivos do Instituto Biológico 74(2):163-165.
- Gomes RSS, Nascimento LC (2018) Induction of resistance to *Colletotrichum truncatum* in lima bean. Arquivos do Instituto Biológico 85:1-7, e0022018, 2018.
- Machado JC, Barrocas EN, Costa MLN, Guimarães RM, Machado CF (2012) Uso da técnica de restrição hídrica ou “condicionamento osmótico” em patologia de sementes. Revisão Anual de Patologia de Plantas 20:37-63.
- Machado JC, Oliveira JA, Vieira MGGC, Alves MC (2001) Inoculação artificial de sementes de soja por fungos, utilizando solução de manitol. Revista Brasileira de Sementes 23(2):95-101.
- Machado JC, Oliveira JAD, Vieira MGGC, Alves MDC (2004) Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). Revista Brasileira de sementes 26(1):62-67.
- Machado Neto NB, Custódio CC, Costa PR, Doná, FL (2006) Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão. Revista Brasileira de Sementes 28(1):142-148.

- Menezes VO, Pedroso DC, Piveta G, Muniz MFB, Menezes NL, Garcia DC, Erhur LZ, Santos RF, Tunes LM (2011) Detecção e influência de *Fusarium* spp. na qualidade fisiológica de sementes de pepino. *Ciência Rural* 41(2):193-199.
- Migliorini P, Dorneles KR, Rodrigues GF, Paula G, Tunes LVM (2017) Métodos de inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão e danos em plântulas. *Biotemas* 30(1):37-43.
- Moreau JS (2011) Germinação de sementes em diferentes substratos e caracterização morfológica de plântulas de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan 45f. Monografia (Graduação em Agronomia), Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre.
- Mota JMD, Melo MPD, García MEM, Sousa ES, Sousa EMDJ, Barguil BM, Beserra Jr, JEA (2019) Transmission of *Colletotrichum truncatum* and *Macrophomina phaseolina* by lima bean seeds. *Summa Phytopathologica* 45(1):33-37.
- Minuzzi A, Braccini ADL, Rangel MAS, Scapim CA, Barbosa MC, Albrecht LP (2010) Qualidade de sementes de quatro cultivares de soja, colhidas em dois locais no estado de Mato Grosso do Sul. *Revista Brasileira de Sementes* 32(1):176-185.
- Noetzold R, Alves MDC, Cassetari Neto D, Machado AQ (2014) Variabilidade espacial de *Colletotrichum truncatum* em campo de soja sob três níveis de sanidade de sementes. *Summa Phytopathologica* 40(1):16-23.
- Pedroso DC, Menezes VO, Muniz MFB, Piveta G, Tunes LM, Muller J, Menezes NL (2010) Métodos de inoculação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em sementes de salsa e sua influência na qualidade fisiológica. *Revista Brasileira de Sementes* 32(3): 79-85.
- Pereira VGC, Gris DJ, Maragoni T, Frigo JP, Azevedo KD, Grzesiuck AE (2014) Exigências agroclimáticas para a cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Brasileira de Energias Renováveis* 3(1):32-42.
- Piveta G, Menezes VO, Pedroso DC, Muniz MFB, Blume E, Wielewicki AP (2010) Superação de dormência na qualidade de sementes e mudas: influência na produção de *Senna multijuga* (L. C. Rich.) Irwin & Barneby. *Acta Amazônica* 40(2):281-288.
- Raof MA, Rao TGN (1996) A simple screening technique for early detection of resistance to castor wilt. *Indian Phytopath* 49(4):389-392.
- Reis GF, Bacchi LMA, Gavassoni WL, Hirata LM, Pontim BCA (2014) Viabilidade de armazenamento de sementes de soja inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum* em meio com restrição hídrica. *Summa Phytopathologica* 40(2):168-173.

- Rey MS, Lima NB, Santos J, Pierobom CR (2009) Transmissão semente-plântula de *Colletotrichum lindemuthinum* em feijão (*Phaseolus vulgaris*). Arquivos do Instituto Biológico 76(3):465-470.
- Rodrigues GF, Migliorini P, Junges E, Silva RNO, Chagas HL, Nunes A, Gularte JA, Tunes LVM (2016) Inoculação artificial de *Fusarium oxysporum* em sementes de *Phaseolus vulgaris*. Scientia Plena 12(7):1-6.
- Santos AF, Parisi JJD, Mentem JOM. (Eds.) (2011) Patologia de sementes florestais. Colombo: Embrapa Florestas, 236 p.
- Santos GR, Rodrigues AC, Bonifacio A, Chagas Junior AF, Tschoeke PH (2014) Severidade de antracnose em folhas de sorgo submetido a doses crescentes de silício. Revista Ciência Agronômica, 45(2):403-408.
- Seifert K, Morgan-Jones G, Gams W, Kendrick B (2011) The genera of Hyphomycetes. CBSKew Fungal Biodiversity Centre, Utrecht. 866p.
- Silva Flávio NSD, Sales NLP, Aquino CF, Soares EPS, Aquino LFS, Catão HCRM (2014) Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de sorgo tratadas com extratos aquosos e óleos essenciais. Semina Ciências Agrárias 35(1):7-20.
- Sousa MV, Machado JC, Pfenning LH, Kawasaki VH, Araújo DV, Silva AA, Martini Neto A (2008) Métodos de inoculação e efeitos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro. Tropical Plant Pathology 33(1):41-48.
- Sousa RS, Rodrigues FA, Schurt DA, Souza NFA, Cruz MFA (2013) Cytological aspects of the infection process of *Pyricularia oryzae* on wheat plants supplied with silicon. Tropical Plant Pathology, 38(6):472-477.
- Tanaka MAS, Mentem JOM (1991) Comparação de métodos de inoculação de sementes de algodoeiro com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*. Summa Phytopathologica 17(1):219-226.
- Teixeira H, Machado JC (2003) Transmissibilidade e efeito de *Acremonium strictum* em sementes de milho. Ciência e Agrotecnologia 27(5):1045-1052.
- Yesuf M, Sangchote S (2005) Seed Transmission and epidemics of *Colletotrichum lindemuthianum* in the major common bean growing areas of Ethiopia. Kasetsart Journal, 39:34-45.

CAPÍTULO III

INDUTORES DE RESISTÊNCIA NO MANEJO DA ANTRACNOSE EM FEIJÃO FAVA

Indutores de resistência no manejo da antracnose do feijão fava

RESUMO

São observadas diferentes respostas em plantas após a infecção por patógenos. Assim, a aplicação de indutores sistêmicos sejam bióticos ou abióticos tem a função de ativar a produção de enzimas ligadas ao sistema de defesa da planta. Adicionalmente, pesquisas com métodos alternativos utilizando indutores de resistência têm sido bastante promissores na busca de produtos com alto potencial no controle de patógenos. Os indutores acibenzolar-S-metil, biomassa cítrica, fosfito de K, argila silicatada e silicato de Ca e Mg com ou sem o fungicida carbendazim apresentaram maior potencial para reduzir a antracnose causada por *Colletotrichum truncatum* em plantas de feijão fava, mostrando os valores mais baixos para área abaixo da curva de progresso da doença e índice de doença ao longo do período de avaliação. A progressão da doença proporcionou uma mudança de atividade enzimática, onde indutores acibenzolar-S-metil, biomassa cítrica, fosfito de K, argila silicatada e silicato de Ca e Mg com ou sem o fungicida carbendazim promoveram as maiores atividades enzimática e índices de troca gasosa em comparação com os outros indutores. O uso de indutores de resistência biótico (biomassa cítrica) e abióticos (acibenzolar-S-metil, fosfito de K, argila silicatada e silicato de Ca e Mg) apresentam um alto potencial para o combate da antracnose em plantas de feijão fava variedade UFPB04, no entanto, os mecanismos de ação diferem entre os diferentes indutores, quando combinado com o fungicida e entre as diferentes regiões de cultivo.

Palavras-chave: *Colletotrichum truncatum*. Indução de resistência. Fotossíntese. *Phaseolus lunatus*.

Resistance inducers in the management of lima bean anthracnose

ABSTRACT

Different responses are observed in plants after pathogen infection. Thus, the application of systemic inducers either biotic or abiotic has the function of activating the production enzymes linked to the plant defense system. In addition, research on alternative methods using resistance inducers has been very promising in the search for high potential pathogen control proteins.

The inducers acibenzolar-S-methyl (ASM), citrus biomass (BC), phosphite K (FK), silicate clay (AS) and silicate Ca and Mg (SCM) with or without carbendazim fungicide presented higher potential to reduce anthracnose caused by *Colletotrichum truncatum* in lima bean plants, showing the lowest values for area below the disease progress curve and disease index over the evaluation period. Disease progression provided a change in enzymatic activity, where acibenzolar-S-methyl, citrus biomass, phosphite K, silicate clay and silicate Ca and Mg inducers with or without carbendazim fungicide promoted higher enzymatic activity and gas exchange rates compared with other inducers. The use of biotic (citrus biomass) and abiotic (acibenzolar-S-methyl, phosphite K, silicate clay and silicate Ca and Mg) resistance inducers has a high potential for the fight against anthracnose in lima bean plants variety UFPB04, however, the mechanisms of action differ between the different inducers, when combined with the fungicide and between the different growing regions. Thus, further studies covering different environments, plant varieties and climatic conditions are suggested in further research.

Key words: *Colletotrichum truncatum*. Resistance induction. Photosynthesis. *Phaseolus lunatus*.

12 INTRODUÇÃO

Os grãos de feijão fava (*Phaseolus lunatus* L.) são ricos em proteínas e minerais, além de compostos de elevada atividade antioxidante e anticancerígena reconhecidas, representando uma fonte de alimento saudável e funcional para o organismo humano (Lacerda et al., 2016; Gunjal e More, 2019). Essa espécie é considerada uma importante fonte de alimento no Brasil, principalmente na região Nordeste, onde sua produção e consumo são mais elevados (Penha et al., 2016).

No Brasil, o feijão fava apresenta alta diversidade genética, superior ao relatado para outras regiões da América e semelhante ao relatado para populações selvagens, em centros de diversidade genética da espécie (Penha et al., 2016). Apesar da elevada importância socioeconômica, seu cultivo ainda é limitado, principalmente pela ausência de pacotes tecnológicos, sobretudo no que se refere ao manejo de insetos praga, doenças e nutrientes para alcançar altas produtividades.

A antracnose é uma doença causada por espécies de *Colletotrichum* spp. que provoca destruição de folhas, hastes e frutos de diferentes culturas, reduzindo a produtividade e a qualidade dos produtos (Baggio et al., 2018; Keterew et al., 2018; Kiptoo et al., 2018). No Brasil, em especial na região Nordeste, diferentes espécies de *Colletotrichum* foram

identificadas causando a doença em feijão fava, tais como, *C. truncatum*; *C. cliviae*; *C. fructicola*; *C. musicola*; *C. brevisporum*; *C. lobatum*; *C. plurivorum*, mas a espécie *C. truncatum* é o principal patógeno deste hospedeiro (Sousa et al., 2018; Cavalcante et al., 2019).

O *C. truncatum* apresenta ampla distribuição nos Estados do Ceará, Piauí, Alagoas, Paraíba e Pernambuco, principais produtores da fava na região, e elevada virulência, causando podridão típica da antracnose principalmente nas sementes e vagens, mas também nas hastes e folhas (Cavalcante et al., 2019), sendo um dos principais fatores que limitam a produtividade (Nascimento et al., 2017).

Em condições de campo, variedades de feijão fava apresentam diferentes níveis de resistência ao ataque de *C. truncatum* (Carmo et al., 2015). Parte do sistema de defesa natural das plantas pode ser ativado e potencializado a partir de substâncias indutoras, que conduzem à ativação de enzimas relacionadas com a defesa, caracterizando uma resistência sistêmica induzida (Jain et al., 2016; Adrees et al., 2019). A regulação destas enzimas permite que as plantas resistam ao ataque do patógeno e mantenham a produtividade elevada.

Várias alternativas de indução de resistência em plantas têm sido pesquisadas. A aplicação de fosfito de K demonstrou ser uma alternativa para o manejo da antracnose no feijão fava, pois induziu significativamente as enzimas de defesa da planta, como peroxidase e fenilalanina amônia liase (Silva et al., 2015). Por sua vez, o mecanismo de resistência sistêmica induzida em *Cucumis sativus* L. contra *C. orbiculare* foi caracterizado pelo aumento nas atividades da peroxidase e polifenol oxidase, paralelo ao aumento da produção de lignina e autoproteção dos tecidos das plantas (Elsharkawy et al., 2015).

O principal método de controle da antracnose no feijoeiro continua sendo a aplicação de produtos químicos, o que encarece os custos de produção e traz riscos ao meio ambiente e a saúde. No entanto, a aplicação dos indutores de resistência é um método alternativo e eficiente em reduzir a severidade da doença na cultura (Nascimento et al., 2017; Gomes & Nascimento, 2018), além de representar uma alternativa segura, ambientalmente correta e economicamente viável.

Neste contexto, substâncias como acibenzolar-S-metil, manano-oligossacarídeo fosforilado, fosfito de K, silicato de Ca e Mg, biomassa cítrica e argila silicatada vem sendo aplicados para controlar a antracnose do feijão fava (Nascimento et al. 2017; Gomes & Nascimento, 2018), mas seus efeitos variam de acordo com as características da cultivar, dose aplicada e condições de cultivo.

Assim, o objetivo do trabalho foi determinar os efeitos de diferentes indutores de resistência no controle do *C. truncatum* em plantas de feijão fava, em duas regiões de cultivo.

13 MATERIAL E MÉTODOS

13.1 Obtenção das sementes

Foram utilizadas sementes crioulas de feijão fava, oriundas de área de produção no município de Cuité, Paraíba, sendo classificadas de UFPB04, com hábito de crescimento determinado, conforme descrição de Gomes & Nascimento (2018).

13.2 Área experimental

Os experimentos foram conduzidos em regime de sequeiro, sob condições de campo entre maio a dezembro de 2017. O primeiro experimento foi conduzido na área experimental da Chã de Jardim localizada em latitude 6°58'8" S, longitude de 35°42'15" W e altitude de 620 metros acima do nível do mar, no município de Areia, na região do Brejo da Paraíba. O clima de acordo com a classificação de Köppen e Geiger (1936) é quente e úmido, do tipo As', com temperatura média anual que oscila entre 21 a 26 °C, com variações mensais mínimas (Cavalcante et al. 2018), com umidade relativa média em torno de 80% e precipitação média anual de 1.400 mm (Guedes Filho et al. 2011). O solo é classificado como Neossolo regolítico (Embrapa 2013).

O segundo experimento foi conduzido na área experimental da Empresa Paraibana de Pesquisa, Extensão Rural e Regularização Agrária (Empaer), localizada em latitude 7°13'00" S e longitude 35°52'00" O, a uma altitude de 335 m, município de Lagoa Seca, na região Agreste da Paraíba. O clima, de acordo com a classificação de Köppen e Geiger (1936) é do tipo Aw', com temperatura média anual é de 27 °C, com umidade relativa média em torno de 70% e a precipitação média anual é de 764,3 mm. O solo da área é classificado como Argissolo vermelho eutrófico abrupto (Embrapa 2013).

13.3 Instalação dos experimentos

A análise de características de fertilidade do solo teve a amostra coletada a uma profundidade de 0 a 20 cm do solo, na área experimental da Chã de jardim, localizada no município de Areia, utilizada antes da semeadura, repedindo tais procedimentos para a mesma análise na área experimental da Empaer, localizada no município de Lagoa Seca. Antes da implantação dos experimentos, realizou-se a correção e adubação do solo, conforme a

recomendação de Cavalcanti (2008), considerando-se os valores encontrados nas análises de fertilidade do solo. Os experimentos foram conduzidos em regime de sequeiro, sob condições de campo entre maio a dezembro de 2017.

13.4 Definição dos tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas no local, com quatro repetições. Nas parcelas principais, foram avaliados quatorze tratamentos, sendo os indutores manano-oligossacarídeo fosforilado, acibenzolar-S-metilico, biomassa cítrica, fosfito de K, argila silicatada e silicato de Ca e Mg, associados com e sem fungicida, além do controle com carbendazim e testemunha, conforme formulações descritas na Tab. 1 e, nas sub parcelas, foram avaliadas a influência das áreas experimentais de Areia e Lagoa Seca, sob avaliação da severidade da antracnose e determinação da atividade enzimática e ecofisiológica em feijão fava.

Tab.1 - Tratamentos à base de indutores de resistência bióticos e abióticos usados no controle da antracnose do feijão fava (*Colletotrichum truncatum*).

Tratamentos	Composição química dos produtos	Fungicida (dose L ⁻¹)		
		sem	com	
MOF	manano-oligossacarídeo fosforilado	Agro-mos® - sulfato de cobre, sulfato de zinco e complexado por aminoácidos.	3 g	1,5 g + 0,12 mL
ASM	acibenzolar-S-metilico	Bion® - 500 g kg ⁻¹ acibenzolar-S-metilico.	0,16 g	0,8 g + 0,12 mL
BC	biomassa cítrica	Ecolife® - bioflavonóides, ácido ascórbico, ácido láctico e glicerina vegetal.	3 mL	1,5 mL + 0,12 mL
FK	fosfito de K	Pentóxido de fósforo (P ₂ O ₅) e Óxido de potássio (K ₂ O).	3 mL	1,5 mL + 0,12 mL
AS	argila silicatada	Rocksil® - 20,6% Al ₂ O ₃ ; 17,4% SiO ₂ ; 9,8% S; 1,3% CaO; 0,3% TiO ₂ ; 0,2% MgO; 0,2% Fe ₂ O ₃ ; 0,1% P ₂ O ₅	3 g	1,5 g + 0,12 mL
SCM	silicato de Ca e Mg	Agrosilício Plus® - 34,9% CaO; 25% Ca; 9,9% MgO; 6% Mg; 22,4% SiO ₂ ; 10,5% Si.	3 g	1,5 g + 0,12 mL
CA	carbendazim	Carbendazim® (fungicida) - methyl benzimidazol-2-ylcarbamate 500 g a.i L ⁻¹ e ingredientes inertes 500 g L ⁻¹	0,24 mL	
TE	testemunha	Água destilada		

As avaliações de *C. truncatum versus* feijão fava, ocorreram em dois experimentos, compreendendo-se duas regiões de cultivo distintas, a fim de avaliar o controle do patógeno em feijão fava, sob condições de campo. A semeadura foi realizada manualmente, sendo que cada unidade experimental continha 6 m² (2 m x 3 m), dividida em 3 linhas com espaçamento de 1 m entre linhas e 0,5 m entre plantas, contendo um total de 18 plantas parcela⁻¹.

Procedeu-se a abertura das covas para realização da semeadura manual com quatro sementes cova⁻¹, permanecendo apenas duas plantas por cova após o período de emergência das plantas. O controle de plantas espontâneas foi feito através de capina manual durante o período de avaliação dos experimentos. Aos 52 dias após semeadura (DAS) as plantas foram submetidas à primeira pulverização com os tratamentos (Tab. 1) e após quinze dias, feita nova aplicação dos tratamentos.

13.5 Variáveis analisadas

A **severidade da antracnose** foi avaliada a cada sete dias, tomando como base duas folhas de cada região do terço superior, médio e inferior da planta, referentes aos 14 tratamentos, atribuindo-se notas de 0, 0.13, 0.47, 0.64, 1.26, 3.07, 7.53 e 14.81% da área foliar infectada, conforme escala diagramática adaptada de Dalla Pria e Amroim (2010), sob condições de campo. Em seguida, feito o cálculo da **área abaixo da curva de progresso da doença** (AACPD), para cada repetição, conforme Campbell e Madden (1990) e a partir dos valores de severidade da antracnose foram utilizados no cálculo do **índice de doença**, de acordo com Erkilic et al. (2006).

A avaliação da atividade enzimática foi realizada aos 21 dias após segunda aplicação dos tratamentos em plantas de feijão fava, nas duas regiões de cultivo, avaliando-se a atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase. A extração do material foi realizada pela maceração de 1 g de folhas em 10 mL de acetato de sódio, após a obtenção de uma massa homogênea e depositada em tubos de Eppendorf, centrifugadas a 12.000 G durante 15 minutos a -4 °C. O sobrenadante foi utilizado para determinar a atividade enzimática. Foi realizada a quantificação das proteínas totais pelo método proposto por Bradford (1976).

A **atividade da peroxidase** foi determinada a partir da adição de 0.25 mL de extrato enzimático ao meio de reação contendo 0.25 mL de guaiacol (1.7%), 0.75 mL de tampão fosfato 0.1 M (pH 6.0) e 0.25 mL de H₂O₂ (1.8%), totalizando um volume de 1.5 mL. Para o branco a composição foi a mesma do meio de reação, exceto o extrato enzimático que foi substituído por ADE. A determinação da atividade enzimática foi expressa em espectrofotômetro, pela variação da absorbância, no comprimento de onda de 470 nm à 25 °C. Após a mistura foi realizada a leitura imediatamente e a atividade expressa em Unidades de Absorbância (UA) min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

Para determinação da **atividade da polifenoloxidase**, foi adicionado 0.25 mL de extrato enzimático ao meio de reação contendo 0.25 mL de S-metil-catecol 0.6 mM e 0.75 mL de

tampão fosfato 0.1 M (pH 6.8). Para o branco a composição foi a mesma do meio de reação, exceto o extrato enzimático que substituído por ADE. As amostras foram incubadas por 15 minutos, em banho maria à 40 °C. Após esse período, foi realizada a paralisação da atividade das amostras com adição de 0.8 mL de ácido perclórico. A determinação da atividade enzimática foi expressa em espectrofotômetro, pela variação da absorbância, no comprimento de onda de 395 nm, a 25 °C. A atividade foi expressa em $UA \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína.

Para a **atividade da fenilalanina amônia-liase** foi determinada adicionando 0.5 mL do extrato enzimático em tubos de ensaio com a adição de 1.5 mL da solução de tampão TRIS (0.01M, pH 8.8), 0.5 mL de solução de fenilalanina (substrato) e 0.5 mL de ADE. O branco, utilizado para zerar o espectrofotômetro, foi composto por todas as soluções do meio de reação, exceto o extrato enzimático que foi substituído por ADE. Os tubos contendo as amostras foram incubadas em banho-maria a 40 °C, durante 60 minutos. Em seguida as amostras foram paralisadas com a adição de 0.1 mL de ácido clorídrico a 5.0 M. A leitura foi realizada em cubeta de quartzo no espectrofotômetro pela variação da absorbância, no comprimento de onda de 290 nm à 25 °C e os resultados foram expressos em $UA \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína.

As análises ecofisiológicas foram realizadas aos 82 dias após a semeadura entre às 9 h e 13 h. As determinações das trocas gasosas foram realizadas com um medidor portátil de fotossíntese - IRGA (LI-COR - modelo LI-6400XT), sendo analisadas a quarta folha a partir do ápice da planta de cada parcela, sempre na região mediana das folhas completamente expandidas, totalmente expostas à radiação solar. Avaliaram-se as seguintes características: **assimilação líquida de CO₂ (A)** ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); **condutância estomática** ($\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); **concentração de CO₂** ($\text{mmol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), **transpiração** ($\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e **temperatura da folha** (°C). Após a coleta dos dados foram quantificadas a **eficiência instantânea do uso da água** = A/E ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), **eficiência intrínseca do uso da água** = A/g_s ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a **eficiência instantânea de carboxilação** = A/C_i ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \text{mmol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). A temperatura na área experimental no município de Areia variou entre 18.1 e 27 °C e de 17.6 e 25.01 °C na área experimental de Lagoa Seca e com umidade relativa do ar entre 31.1 a 37.6% e, de 30.1 a 38.5% nas respectivas áreas experimentais, no espaço de tempo em que as leituras foram tomadas.

A **produtividade** foi determinada ao final do ciclo da cultura a partir da média obtida para os quatorze tratamentos por meio da colheita de grãos secos na área útil de cada parcela, corrigindo a umidade para 13% e expressa em kg ha^{-1} .

Os dados meteorológicos de **umidades relativa máxima, mínima, temperaturas máxima, mínima e precipitação pluviométrica total**, referentes ao período de avaliação, nas referidas regiões de cultivo, sendo obtidos pelas Estações: OMM: 81877, Areia-A310, e OMM: 81913, Campina Grande-A313, pertencentes ao Instituto Nacional de Meteorologia.

De acordo com os dados climáticos (precipitação, umidade relativa e temperatura) de valores médios semanais, obtidos durante os períodos de avaliação da severidade da antracnose revelaram uma clara distinção entre as regiões (Brejo e Agreste da Paraíba) de cultivo, durante os períodos (semanas) de avaliação (Fig. 1).

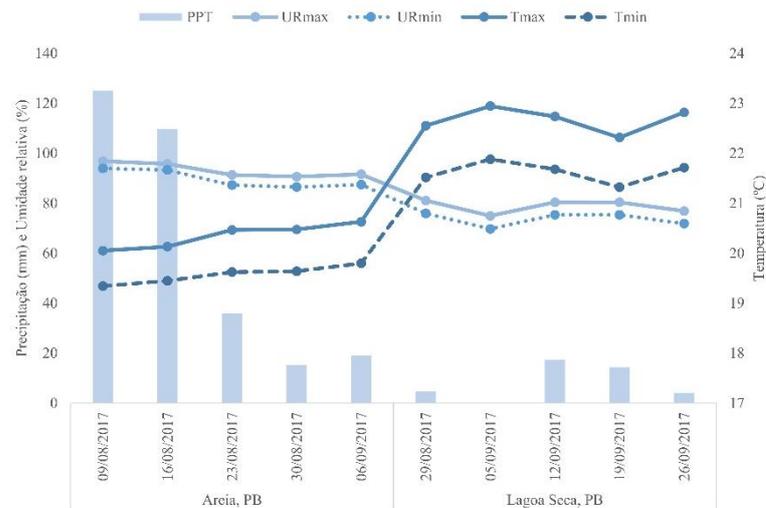


Fig. 1- Precipitação total (*PPT*), umidades relativa máxima (*URmax*), mínima (*URmin*), temperaturas máxima (*Tmax*) e mínima (*Tmin*) de valores médios semanais registrados nos municípios de Areia e Lagoa Seca, Paraíba, durante o período de avaliação da severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*).

13.6 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância e, de acordo com a significância do teste F, as médias dos tratamentos dentro de cada área experimental e das regiões de cultivo para cada tratamento foram comparadas pelos testes de Tukey e F, respectivamente.

O efeito de cada indutor, com e sem fungicida, foi comparado com a testemunha absoluta e com o tratamento carbendazim pelo teste de Dunnett em até 5% de probabilidade. Diferenças significativas foram relatadas para $p \leq 0.05$ e utilizou-se o software R[®] (Core Team, 2018).

14 RESULTADOS

O valor acumulado de precipitação foi de 305,2 mm na área experimental Chã de Jardim, município de Areia e de 40.8 mm na área experimental da Empaer, município de Lagoa Seca (Fig. 1), sendo registradas variações de média semanais de chuvas entre 15.2 a 125.2 mm na

área de Areia, enquanto que na área de Lagoa Seca foram registrados valores abaixo do esperado para precipitação, ficando entre 0.2 a 1.4 mm durante o período de avaliação. A umidade relativa do ar variou de 86.5 a 96.8% na área experimental de Areia, com média de 91.5%, enquanto que na área experimental de Lagoa Seca variou de 69.8 a 81.1 %, com média de 76.2% (Fig. 1). A temperatura na área experimental de Areia variou de 19.3 a 20.6 °C, com média de 20 °C, enquanto na área experimental de Lagoa Seca, a temperatura média foi um pouco elevada à 22.1 °C, variando de 21.3 a 22.9 °C (Fig. 1).

As plantas de feijão fava apresentaram área abaixo da curva de progresso da doença de 5.83% e 12.69% nas áreas experimentais de Areia e Lagoa Seca, respectivamente (Fig. 2a, b). Este resultado é confirmado quando observa-se o índice de doença obtido por meio da severidade final da antracnose, que foi de 24.98% em Areia de 31.96% em Lagoa Seca (Fig. 2c, d).

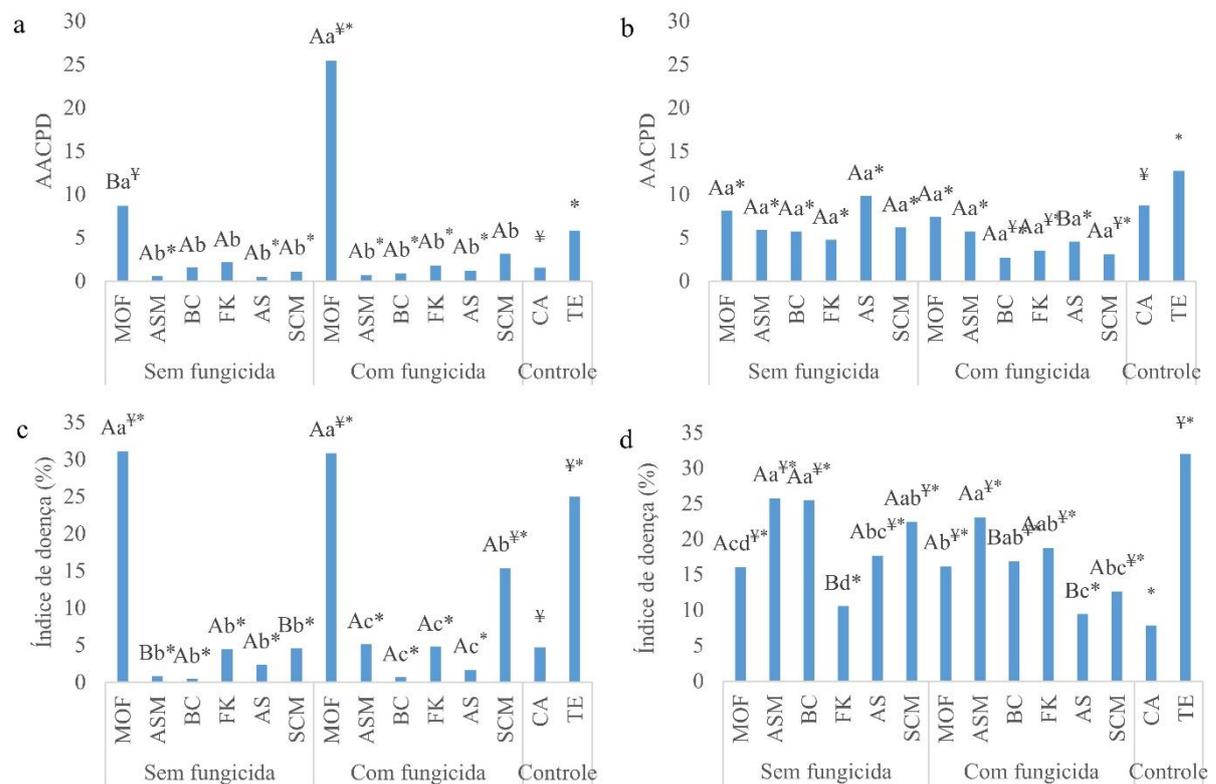


Fig. 2 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e Índice de doença (ID), causada pelo *Colletotrichum truncatum* em plantas do feijão fava, antes submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (MOF), acibenzolar-S-metilico (ASM), biomassa cítrica (BC), fosfito de K (FK), argila silicatada (AS), silicato de Ca e Mg (SCM), fungicida carbendazim (CA) e testemunha (TE) apenas água, nos municípios de Areia (a, c) e Lagoa Seca (b, d), Paraíba.

*Médias seguidas por diferentes letras, maiúsculas para cada indutor com e sem fungicida e minúsculas entre indutores com ou sem fungicida, diferem entre si pelos testes F e Tukey, respectivamente, em até 5% de probabilidade. ‡ e * indicam respectivamente diferenças significativas em relação ao fungicida carbendazim e a testemunha pelo teste de Dunnett ($p \leq 0.01$).

Na área experimental de Areia, houve uma forte interação da combinação dos diferentes indutores com o fungicida. A aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado, biomassa cítrica e fosfito de K sem o fungicida não reduziram a área abaixo da curva de progresso da doença quando comparados com a testemunha (Fig. 2a). No entanto, quando combinado com o fungicida, a aplicação de biomassa cítrica resultou em área abaixo da curva de progresso da doença inferior ao observado para a testemunha, sugerindo sinergismo entre o indutor de resistência e o fungicida no controle da doença. Por outro lado, a aplicação de acibenzolar-S-metil, argila silicatada e silicato de Ca e Mg sem o fungicida promoveram forte redução da área abaixo da curva de progresso da doença, enquanto silicato de Ca e Mg combinado com o fungicida não diferiu da testemunha (Fig. 2a).

Independentemente da aplicação do fungicida, todos os indutores favoreceram menor área abaixo da curva de progresso da doença e índice de doença em plantas de feijão fava cultivados no município de Lagoa Seca, quando comparados com a testemunha (Fig. 2b, d). Adicionalmente, não houve diferenças significativas entre a aplicação do fungicida e a aplicação dos indutores isoladamente (sem fungicida) sobre área abaixo da curva de progresso da doença em Lagoa Seca, indicando que os indutores de resistência foram tão eficientes quanto o carbendazim em manter baixos os níveis área abaixo da curva de progresso da doença da antracnose no feijão fava (Fig. 2b). De maneira semelhante, no município de Areia os indutores também resultaram em área abaixo da curva de progresso da doença e índice de doença similar ao fungicida, exceto manano-oligossacarídeo fosforilado que resultou nos maiores valores de área abaixo da curva de progresso da doença e índice de doença, além de silicato de Ca e Mg combinado com fungicida, que favoreceu elevado índice de doença (Fig. 2a, c).

Para a região de cultivo em Areia, os diferentes indutores não influenciaram na atividade da peroxidase quando aplicados sem o fungicida, ou seja, a atividade dessa enzima foi similar entre os indutores e quando comparados com a testemunha e com o fungicida (Fig. 3a). Por outro lado, a aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado combinada com fungicida, favoreceu maior atividade da peroxidase, também quando comparado com argila silicatada combinada com o fungicida, diferindo ($p \leq 0.01$) do tratamento com fungicida e da testemunha (Fig. 3a).

Na região de cultivo em Lagoa Seca, a aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado e acibenzolar-S-metilico sem o fungicida também resultou em elevada atividade da peroxidase, diferindo ($p \leq 0.01$) do tratamento com fungicida e da testemunha (Fig. 3b). Por outro lado, plantas tratadas com apenas silicato de Ca e Mg e argila silicatada apresentaram a menor

atividade da peroxidase, diferindo significativamente dos demais indutores sem o fungicida. Quando combinado com o fungicida, não houve diferença entre os diferentes indutores, mas a aplicação de fosfito de K e argila silicatada resultaram em atividade da peroxidase superior ao observado para o tratamento apenas com fungicida, diferindo ($p \leq 0.01$) do tratamento fungicida e da testemunha (Fig. 3b).

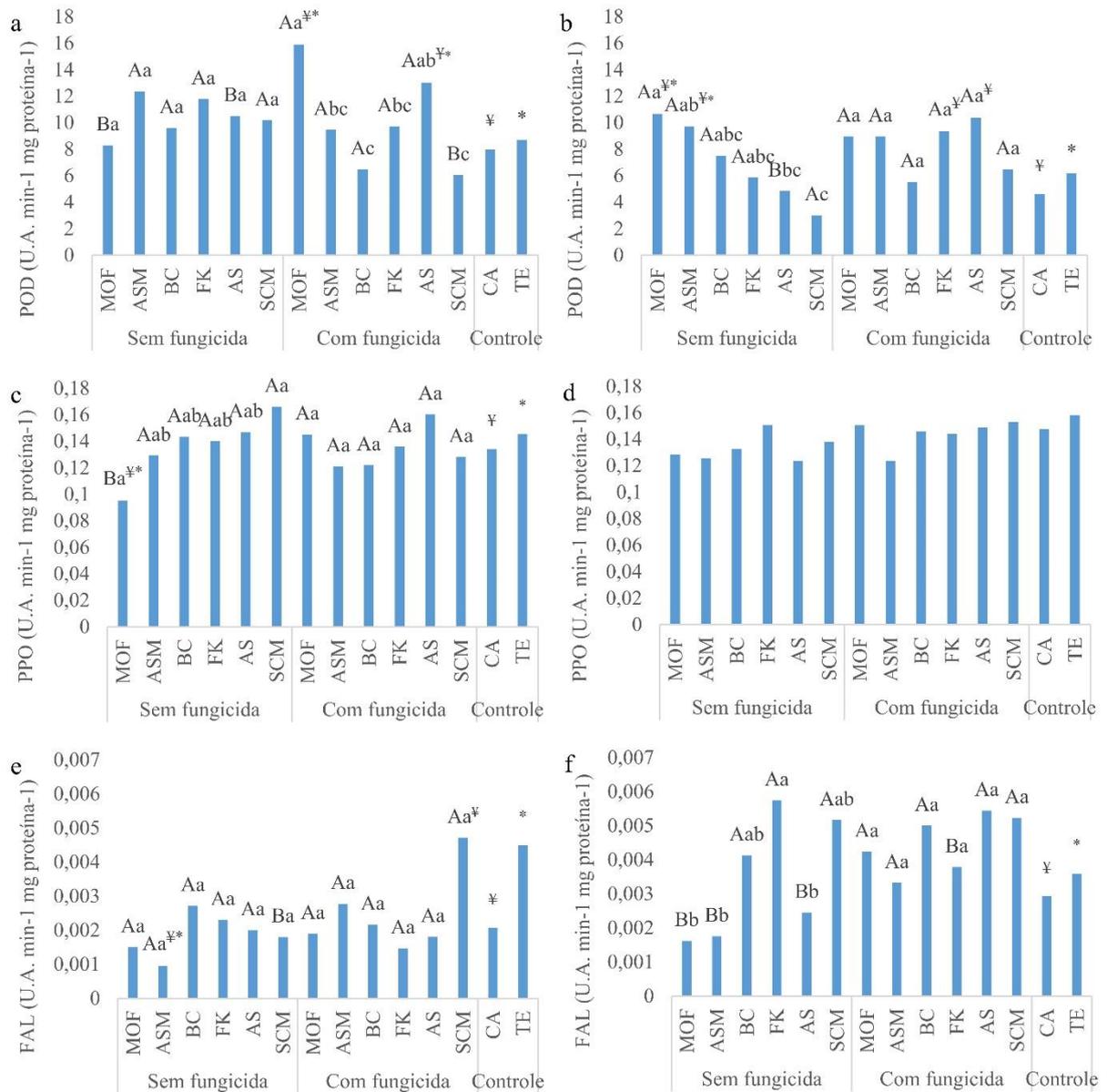


Fig. 3 - Atividade das enzimas peroxidase (*POD*), polifenoloxidase (*PPO*) e fenilalanina amônia-liase (*FAL*) em folhas de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*) submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (*MOF*), acibenzolar-*S*-metílico (*ASM*), biomassa cítrica (*BC*), fosfito de K (*FK*), argila silicatada (*AS*), silicato de Ca e Mg (*SCM*), fungicida carbendazim (*CA*) e testemunha (*TE*), apenas água, nos municípios de Areia (a, c, e) e Lagoa Seca (b, d, f), Paraíba.

*Médias seguidas por diferentes letras, maiúsculas para cada indutor com e sem fungicida e minúsculas entre indutores com ou sem fungicida, diferem entre si pelos testes F e de Tukey, respectivamente, em até 5% de probabilidade. ‡ e * indicam respectivamente diferenças significativas em relação ao fungicida carbendazim e a testemunha pelo teste de Dunnett ($p \leq 0.01$).

A aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado resultou em menor atividade da Polifenoloxidase quando aplicado sem o fungicida na região de cultivo em Areia, diferindo ($p \leq 0.01$) do tratamento fungicida e da testemunha (Fig. 3c). No entanto, quando aplicado com o fungicida ocorreu efeito positivo, sugerindo sinergismo entre o indutor de resistência e o fungicida cabendazim na atividade dessa enzima. A atividade da polifenoloxidase foi mais elevada para os demais tratamentos e similar entre ambos, inclusive quando comparados com o controle e o fungicida. Por sua vez, não houve diferença significativa para a atividade da polifenoloxidase no município de Lagoa Seca (Fig. 3d). Estes resultados indicam que a atividade polifenoloxidase não está necessariamente envolvida no processo de defesa do feijão fava contra *C. truncatum*, como observado para atividade das demais enzimas.

Na região de cultivo em Areia, o tratamento com acibenzolar-S-metil favoreceu atividade da fenilalanina amônia-liase em valor inferior ao observado no tratamento fungicida e da testemunha, diferindo ($p \leq 0.01$) entre si (Fig. 3e). Por sua vez, a aplicação de silicato de Ca e Mg combinada com fungicida resultou em atividade de fenilalanina amônia-liase superior ao observado para a aplicação entre os indutores e o tratamento fungicida, diferindo significativamente. Para a atividade da fenilalanina amônia-liase nas plantas cultivadas em Lagoa Seca, o fosfito de K quando aplicados sem o fungicida resultou em atividade de fenilalanina amônia-liase superior aos demais indutores de resistência, diferindo ($p \leq 0.01$) entre si (Fig. 3f). No entanto, quando combinados com o fungicida, todos indutores de resistência foram similares ao tratamento fungicida e a testemunha, não diferindo estatisticamente. Além disso, houve efeito sinérgico do fungicida quando combinados com os indutores de resistência, elevando a atividade da fenilalanina amônia-liase, exceto para o indutor fosfito de K.

A assimilação líquida de CO_2 foi similar entre todos os tratamentos e em ambos os municípios (Fig. 4a, b), exceto que a aplicação de silicato de Ca e Mg combinada com fungicida, em Lagoa Seca, resultou em assimilação líquida de CO_2 superior ao observado para a aplicação de apenas fungicida (Fig. 4b). Também não foram observados efeitos significativos dos indutores sobre a condutância estomática, exceto que a aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado sem fungicida, em Lagoa Seca, resultou em condutância estomática superior ao observado para o tratamento com apenas fungicida (Fig. 4d).

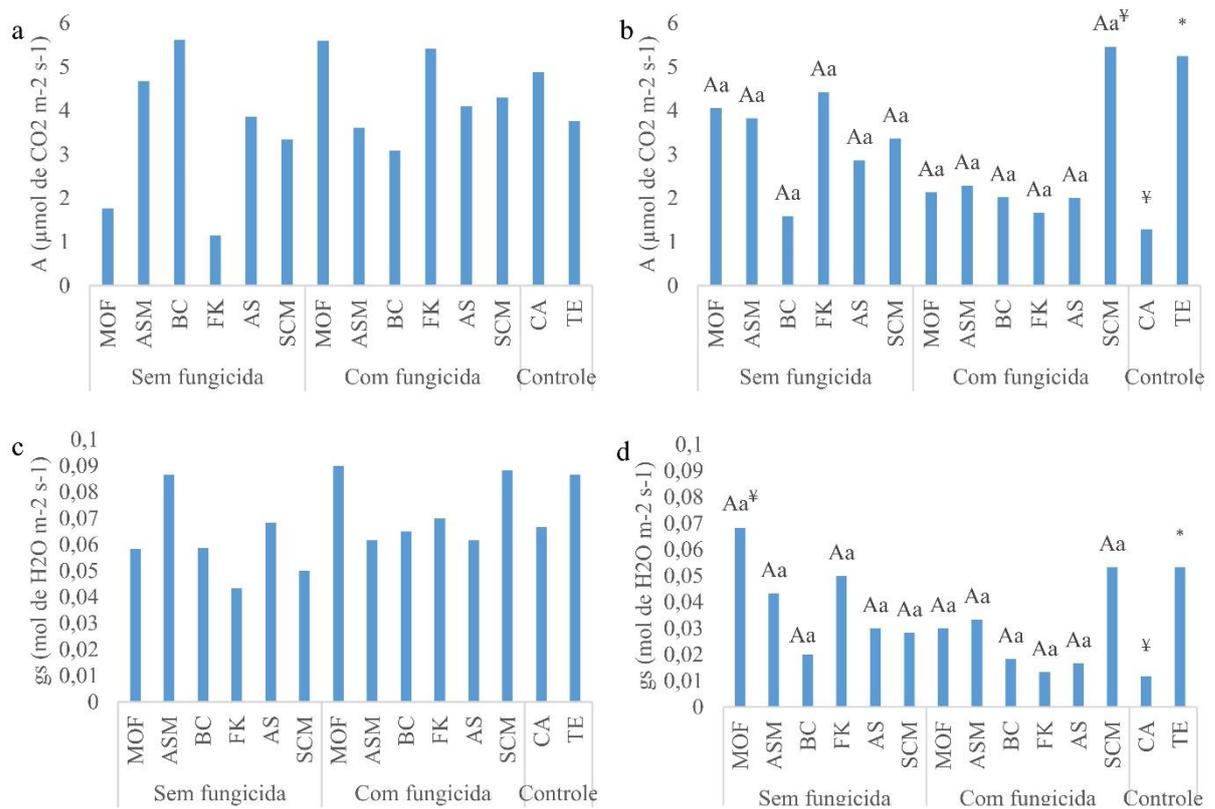


Fig. 4 - Trocas gasosas de assimilação líquida de CO₂ (A) e condutância estomática (*gs*) de plantas de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*) submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (MOF), acibenzolar-S-metilico (ASM), biomassa cítrica (BC), fosfito de K (FK), argila silicatada (AS), silicato de Ca e Mg (SCM), fungicida carbendazim (CA) e testemunha (TE), apenas água, nos municípios de Areia (a, c) e Lagoa Seca (b, d), Paraíba.

*Médias seguidas por diferentes letras, maiúsculas para cada indutor com e sem fungicida e minúsculas entre indutores com ou sem fungicida, diferem entre si pelos testes F e de Tukey, respectivamente, em até 5% de probabilidade. ¥ e * indicam respectivamente diferenças significativas em relação ao fungicida carbendazim e a testemunha pelo teste de Dunnett ($p \leq 0.01$).

Nenhuma diferença significativa foi observada para a concentração de CO₂ nas plantas de feijão fava tratadas com os diferentes indutores, fungicida e não tratadas, registrando-se as médias entre 254,0 a 349,3 μmol de CO₂ m⁻¹ s⁻¹, na Chã de jardim, Areia e de 242,6 a 340,1 μmol de CO₂ m⁻¹ s⁻¹, na Empaer, Lagoa Seca.

Na região de cultivo em Areia, a transpiração não diferiu significativamente entre os tratamentos (Fig. 5a). Em Lagoa Seca, houve diferença significativa entre o indutor manano-oligossacarídeo fosforilado e o tratamento fungicida, onde esse indutor de resistência favoreceu maior transpiração quando comparado com a aplicação de apenas o fungicida (Fig. 5b). Além disso, quando combinado com fungicida, fosfito de K resultou em transpiração inferior ao observado para a testemunha.

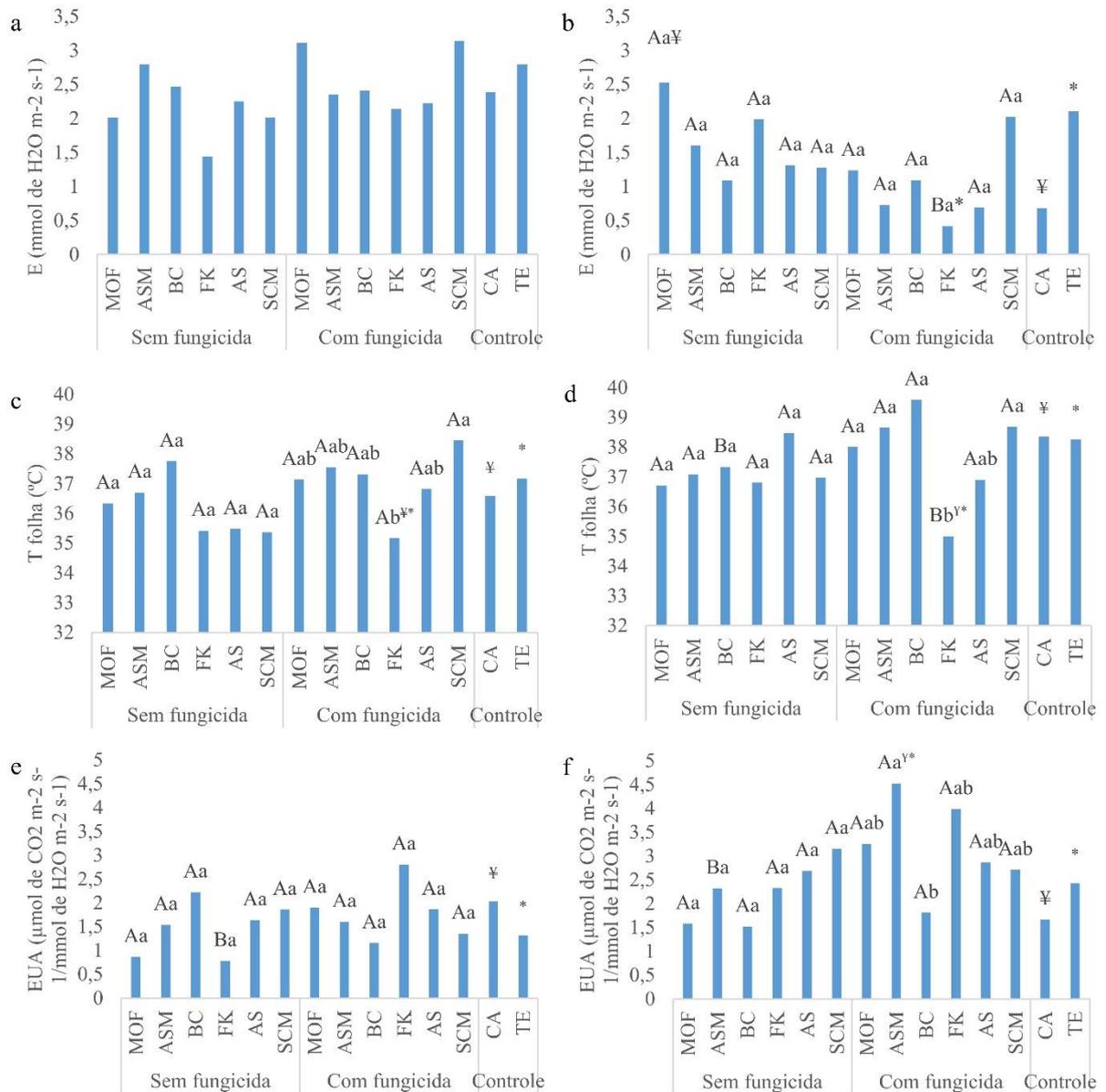


Fig. 5 - Transpiração (E), temperatura da folha (T folha) e eficiência instantânea no uso da água (EUA) de plantas do feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*) submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (MOF), acibenzolar-S-metilico (ASM), biomassa cítrica (BC), fosfito de K (FK), argila silicatada (AS), silicato de Ca e Mg (SCM), fungicida carbendazim (CA) e testemunha (TE), apenas água, nos municípios de Areia (a, c, e) e Lagoa Seca (b, d, f), Paraíba.

*Médias seguidas por diferentes letras, maiúsculas para cada indutor com e sem fungicida e minúsculas entre indutores com ou sem fungicida, diferem entre si pelos testes F e de Tukey, respectivamente, em até 5% de probabilidade. ¥ e * indicam respectivamente diferenças significativas em relação ao fungicida carbendazim e a testemunha pelo teste de Dunnett ($p \leq 0.01$).

Quando os indutores foram aplicados sem o fungicida, não diferiram entre si quanto ao efeito sobre a temperatura da folha, tanto no município de Areia quanto em Lagoa Seca (Fig. 5c, d). Por sua vez, quando combinados com o fungicida, o fosfito de K resultou em menor temperatura da folha em ambos os municípios, diferindo ($p \leq 0.01$) para o tratamento fungicida e a testemunha (Fig. 5c, d).

A combinação de fosfito de K com o fungicida, nas plantas cultivadas em Areia, aumentou a eficiência instantânea no uso da água em relação ao uso de apenas fosfito de K (Fig. 5e). Efeito similar foi observado quando acibenzolar-S-metil foi combinado com fungicida para as plantas em Lagoa Seca (Fig. 5f). Em Areia, não houve diferença entre os diferentes indutores e os tratamentos com fungicida e, da testemunha (Fig. 5e). No entanto, em Lagoa Seca, quando combinado com o fungicida, acibenzolar-S-metil resultou em maior eficiência instantânea no uso da água em relação ao fungicida e a testemunha (Fig. 5f). Além disso, fosfito de K com o fungicida resultou em eficiência instantânea no uso da água superior ao observado para o fungicida.

A eficiência intrínseca do uso da água também foi superior quando fosfito de K foi aplicado com fungicida, no município de Areia, diferindo ($p \leq 0.01$) em relação a aplicação de apenas fosfito de K (Fig. 6a). Por sua vez, no município de Lagoa Seca nenhuma diferença significativa foi observada para a eficiência intrínseca do uso da água entre os tratamentos (Fig. 6b).

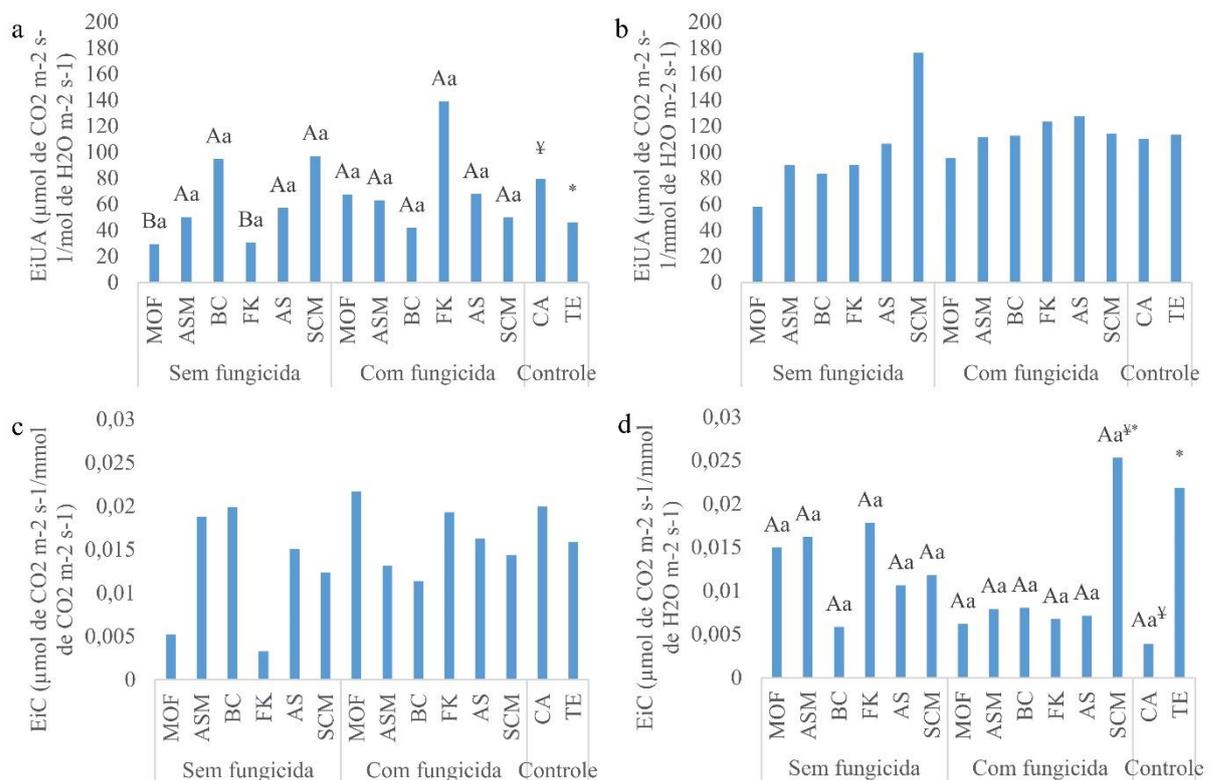


Fig. 6 - Eficiência intrínseca do uso da água (*EiUA*) e eficiência instantânea de carboxilação (*EiC*) de plantas de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*) submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (*MOF*), acibenzolar-S-metilico (*ASM*), biomassa cítrica (*BC*), fosfito de K (*FK*), argila silicatada (*AS*), silicato de Ca e Mg (*SCM*), fungicida carbendazim (*CA*) e testemunha (*TE*) apenas água, nos municípios de Areia (a, c) e Lagoa Seca (b, d), Paraíba.

*Médias seguidas por diferentes letras, maiúsculas para cada indutor com e sem fungicida e minúsculas entre indutores com ou sem fungicida, diferem entre si pelos testes F e de Tukey, respectivamente, em até 5% de probabilidade. ¥ e * indicam respectivamente diferenças significativas em relação ao fungicida carbendazim e a testemunha pelo teste de Dunnett ($p \leq 0.01$).

Em geral, não houve diferenças significativas dos diferentes indutores sobre a eficiência instantânea de carboxilação no cultivo em Areia, exceto para o tratamento com silicato de Ca e Mg combinado com fungicida, em Lagoa Seca, favoreceu eficiência instantânea de carboxilação superior ao observado no tratamento com fungicida e a testemunha (Fig. 6d).

A produtividade foi similar entre os indutores quando tratados sem fungicida em ambos os municípios de Areia e Lagoa Seca e também quando combinados ao fungicida e indutores no município de Lagoa Seca (Fig. 7a, b). No município de Areia, acibenzolar-S-metilico combinado com fungicida favoreceu produtividade superior ao observado para fosfito de K, biomassa cítrica e argila silicatada, silicato de Ca e Mg, também com fungicida (Fig.7a). No entretanto, esse tratamento não diferiu entre o fungicida e a testemunha. Além disso, quando combinado com o fungicida, fosfito de K resultou em produtividade inferior ao fungicida e testemunha, diferindo ($p \leq 0.01$) entre si (Fig. 7a).

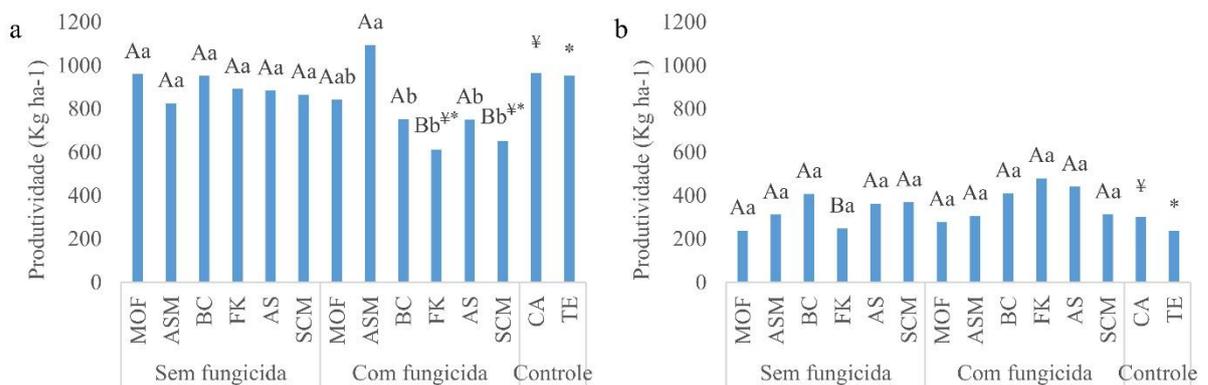


Fig. 7 - Produtividade de feijão fava variedade (*Phaseolus lunatus*) submetidas à aplicação de manano-oligossacarídeo fosforilado (MOF), acibenzolar-S-metilico (ASM), biomassa cítrica (BC), fosfito de K (FK), argila silicatada (AS), silicato de Ca e Mg (SCM), fungicida carbendazim (CA) e testemunha (TE), apenas água, nos municípios de Areia (a) e Lagoa Seca (b), Paraíba.

Médias seguidas por diferentes letras, maiúsculas para cada indutor com e sem fungicida e minúsculas entre indutores com ou sem fungicida, diferem entre si pelos testes F e de Tukey, respectivamente, em até 5% de probabilidade. ¥ e * indicam respectivamente diferenças significativa em relação ao fungicida carbendazim e a testemunha pelo teste de Dunnett ($p \leq 0.01$).

Efeito adicional do fosfito de K combinado ao fungicida foi verificado sobre a produtividade do feijão fava na região de cultivo em Lagoa Seca, diferindo ($p \leq 0.01$) apenas quando utilizado esse indutor de resistência sem o fungicida (Fig. 7b).

15 DISCUSSÃO

Maior incidência da antracnose é normalmente associada às condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento do fungo, tais como temperaturas moderadas, alta umidade relativa e longos períodos de molhamento foliar (Carmo et al., 2015). No entanto, a resistência das plantas ao ataque de doenças depende da carga genética individual (Carmo et al., 2015;

Penha et al., 2016), das características de cada indutor de resistência (Carmo et al., 2015; Gomes & Nascimento, 2018) e do status metabólico da planta, já que a ativação do sistema de defesa terá muitas vezes um custo energético elevado, que pode inclusive reduzir o desempenho produtivo (Kuhn & Pascholati, 2010).

Neste contexto, as plantas de feijão fava no município de Areia demonstraram maior potencial de resistência ao ataque de *C. truncatum*, observado pelos menores valores de área abaixo da curva de progresso da doença e índice de doença em relação a Lagoa Seca. Possivelmente, a baixa pluviosidade em Lagoa Seca (Fig. 1) resultou em plantas com limitado status energético e maior suscetibilidade a doença.

Maior atividade da peroxidase foi considerada como parte do mecanismo de resistência sistêmica induzida contra *C. lindemuthianum* do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), *C. orbiculare* do pepino (*Cucumis sativus* L.) e *C. truncatum* da pimenta (*Capsicum annum* L.) (Elsharkawy et al., 2015; Silva et al., 2015; Gowtham et al., 2018). De fato, a atividade da peroxidase é um poderoso mecanismo de resposta das plantas aos estresses bióticos e abióticos, atuando principalmente na eliminação de espécies reativas de oxigênio que podem ser deletérias para as células (Li et al., 2014). Neste sentido, o tratamento com manano-oligossacarídeo fosforilado, principalmente quando combinado com o fungicida, no município de Areia ou sem fungicida em Lagoa Seca, foi mais eficiente em induzir a resistência contra o *C. truncatum* no feijão fava, observado pela maior atividade da peroxidase (Fig. 3a, b).

Maiores valores de atividade da fenilalanina amônia-liase podem significar alterações na via fenilpropanóide, que por sua vez, indicam ativação de mecanismos de defesa das plantas, como a síntese de lignina, de compostos fenólicos e quinonas, que podem ser potencializados pelos indutores de resistência (Silva et al., 2015). Portanto, o fosfito de K aplicado sem o fungicida demonstrou maior potencial de indução do sistema de defesa do feijão fava, relacionado com a fenilalanina amônia-liase, quando comparado com o manano-oligossacarídeo fosforilado e o acibenzolar-S-metilico (Fig. 3e, f).

De acordo com Silva et al. (2015), plantas sob ataque de *C. lindemuthianum* do feijão comum apresentam aumento na atividade de enzimas de defesa nos primeiros períodos após o contato do patógeno com o hospedeiro, o que causa um custo metabólico para as plantas, consequentemente, a atividade enzimática tende a reduzir posteriormente.

Neste trabalho, foi observada uma leve diferença para as variáveis de desempenho do feijão fava, como as trocas gasosas, condutância estomática, eficiência no uso da água e da carboxilação e produtividade, indicando que independentemente do nível de danos causado pela

a antracnose, as perdas para as plantas foram similares, semelhante ao reportado por Blue et al. (2014).

Apesar da baixa pluviosidade no município de Lagoa Seca, a menor produtividade do feijão fava em relação ao observado no município de Areia pode estar associada também ao elevado custo metabólico das plantas na tentativa de resistir ao ataque do patógeno (Kuhn & Pascholati, 2010). Adicionalmente, a menor produtividade pode ser também um reflexo da alta incidência da antracnose, já que esta doença ocasiona perdas qualitativas e quantitativas, destruindo vagens e sementes (Nascimento et al., 2017; Sousa et al., 2018; Cavalcante et al., 2019).

Em conjunto, a grande variação nas respostas do feijão fava ao ataque da antracnose, sobretudo com relação à aplicação dos diferentes indutores de resistência em diferentes regiões de cultivo, pode estar relacionada a grande variabilidade genética, característica desta espécie (Penha et al., 2016), o que favorece a ocorrência de plantas com maior potencial para o desenvolvimento de resistência.

O uso de indutores de resistência bióticos (biomassa cítrica) e abióticos (acibenzolar-S-metilico, fosfito de K, argila silicatada e silicato de Ca e Mg) apresentam alto potencial para o combate à *C. truncatum* em plantas de feijão fava variedade UFPB04. No entanto, os mecanismos de ação diferem entre os diferentes indutores, difere quando combinado com o fungicida e entre as duas regiões de cultivo do feijão fava, além disso apresenta uma leve redução na produtividade com adição do fungicida aos indutores, efeito considerado normal no custo do manejo integrado de doenças.

16 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil), pela concessão de bolsas do primeiro autor; à Empresa Paraibana de Pesquisa, Extensão Rural e Regularização Fundiária (EMPAER, Lagoa Seca), pela concessão da área para instalação e acompanhamento do experimento.

REFERÊNCIAS

Adrees, H., Haider, M. S., Anjum, T., & Akram, W. Inducing systemic resistance in cotton plants against charcoal root rot pathogen using indigenous rhizospheric bacterial strains and chemical elicitors. *Crop protection* **115**:75-83 (2019).

- Baggio, J. S., Wang, N. Y., Peres, N. A., & Amorim, L. Baseline sensitivity of *Colletotrichum acutatum* isolates from Brazilian strawberry fields to azoxystrobin, difenoconazole, and thiophanate-methyl. *Tropical Plant Pathology* **43**. 6:533-542 (2018).
- Blue, E., Kay, J., Younginger, B. S., & Ballhorn, D. J. Differential effects of type and quantity of leaf damage on growth, reproduction and defence of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). *Plant Biology* **17**.3: 712-719 (2015).
- Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* **72**: 248 – 254 (1976).
- Campbell, C. L., Madden, L. V. Introduction to plant disease epidemiology. New York, John Wiley & Sons. (1990).
- Carmo, M. D. S., Carvalho, E. M. S., Gomes, R. L. F., Lopes, A. C. A. & Cavalcante, G. R. S. Avaliação de acessos de feijão fava, para resistência a *Colletotrichum truncatum*, em condições de folhas destacadas e campo. *Summa Phytopathologica* **41**.4: 292-297 (2015).
- Cavalcante, G. R., Barguil, B. M., Vieira, W. A., Lima, W. G., Michereff, S. J., Doyle, V. P., & Câmara, M. P. Diversity, Prevalence, and Virulence of *Colletotrichum* Species Associated with Lima Bean in Brazil. *Plant disease*, **102**.3: 680–680 (2019). <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-2002-RE>.
- Cavalcanti, F. J. A. Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco: segunda aproximação. Recife: Instituto Agrônomo de Pernambuco, IPA, 212p. (2008).
- Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org>. Access on: 15 Jun. (2018).
- Dalla Pria, M. & Amorim, L. Métodos de avaliação de doenças. In: Dalla Pria, M.; Silva, O. C. Cultura do feijão. Ponta Grossa: Editora UEPG, 132p. (2010).
- Elsharkawy, M. M., Shivanna, M. B., Meera, M. S., & Hyakumachi, M. Mechanism of induced systemic resistance against anthracnose disease in cucumber by plant growth-promoting fungi. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science* **65**.4: 287-299 (2015).
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. 3. Ed. Brasília, DF: Embrapa Produção de Informação, 353p. (2009).

- Erkilic, A., Guven, B., Akgul, D. S. Effects of some plant activators and plant materials on stem rot disease of peanut and pepper caused by *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Turkish Phytopathology* **35**: 15-28 (2006).
- Gomes, R. S. S., & Nascimento, L. C. D. Induction of resistance to *Colletotrichum truncatum* in lima bean. *Arquivos do Instituto Biológico* **85**: 1-7 (2018).
- Gowtham, H. G., Murali, M., Singh, S. B., Lakshmeesha, T. R., Murthy, K. N., Amruthesh, K. N., & Niranjana, S. R. Plant growth promoting rhizobacteria-*Bacillus amyloliquefaciens* improves plant growth and induces resistance in chilli against anthracnose disease. *Biological Control* **126**: 209-217 (2018).
- Guedes Filho, D. H., Santos Júnior, J. A., Costa Filho, J. F., Francisco, P. R. M.; Campos, V. B. Estimativa da evapotranspiração de referência para a cidade de Areia, Paraíba. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada*, **5**: 37-47. (2011).
- Gunjal, K. R., & More, A. D. Study of mitotic index, pollen sterility, flower color mutation and seed coat color mutation in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) induced by mutagens. *International Journal of Scientific Research* **8**:1-8 (2019).
- Jain, S., Varma, A., Tuteja, N., & Choudhary, D. K. Plant growth-promoting microbial-mediated induced systemic resistance in plants: induction, mechanism, and expression. *Microbial-mediated Induced Systemic Resistance in Plants*. Springer, Singapore. DOI: 10.1007/978-981-10-0388-2_15 (2016).
- Keterew, Y., Dawit, W., Selvaraj, T., & Lencho, A. Physiological characterization and evaluation of common bean genotypes against anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. and Magnus) Lams-Scriber) races in West Shewa, Ethiopia. *Int. J. of Life Sciences* **6**:744-754 (2018).
- Kiptoo, G. J., E. E. Arunga, and S. K. Kimno. Evaluation of french bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties for resistance to anthracnose. *Journal of Experimental Agriculture International*. DOI: 10.9734/JEAI/2018/26326 (2018).
- Köppen, G. W., Geiger, M. R. *Handbuch der Klimatologie*. Berlin, 44p. (1936).
- Kuhn, O. J., & Pascholati, S. F. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa. *Summa Phytopathologica* **36.2**: 107-114 (2010).
- Lacerda, R. R., do Nascimento, E. S., de Lacerda, J. T. J. G., da Silva, L. P., Rizzi, C., Bezerra, M. M., Pinto, I. R., Pereira Filho, S. M., Pinto, V. de P. T., Cristino Filho, G. Gadelha, C. A. A. & Gadelha, C. A. A. Lectin from seeds of a Brazilian lima bean variety (*Phaseolus*

- lunatus* L. var. cascavel) presents antioxidant, antitumour and gastroprotective activities. *International journal of biological macromolecules*, **95**, 1072-1081 (2017).
- Li, J. B., Luan, Y. S., & Yin, Y. L. SpMYB overexpression in tobacco plants leads to altered abiotic and biotic stress responses. *Gene* **547**: 145-151 (2014).
- Nascimento, A. D., Feijó, F. M., Albuquerque, A. W., Assunção, I. P., de Andrade Lima, G. S., & Reis, L. S. Severidade da antracnose do feijão fava afetada por doses de cálcio e fontes de silício. *Revista Ciência Agrícola* **15**: 61-68 (2017).
- Penha, J. S., Lopes, A. C. A., Gomes, R. L. F., Pinheiro, J. B., Assunção Filho, J. R., Silvestre, E. A., ... & Martínez-Castillo, J. Estimation of natural outcrossing rate and genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L. var. *lunatus*) from Brazil using SSR markers: implications for conservation and breeding. *Genetic resources and crop evolution* **64**: 1355-1364 (2017).
- Silva, J. L., Alves, E., Pinto, J. E. B. P., Bertolucci, S. K. V., Freitas, M. L. O., de Andrade, C. C. L., & Resende, M. L. V. Essential oil of *Cymbopogon flexuosus*, *Vernonia polyanthes* and potassium phosphite in control of bean anthracnose. *Journal of Medicinal Plants Research* **9**: 243-253 (2015).
- Sousa, E. S., Silva, J. R. A., Assunção, I. P., de Melo, M. P., Feijó, F. M., Matos, K. da S., Lima, G. S. de A. & Beserra Júnior, J. E. A. *Colletotrichum* species causing anthracnose on lima bean in Brazil. *Tropical Plant Pathology* **43**:78-84 (2018).

17 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há interação entre variedades e anos de safra, gerando ambientes favoráveis e não favoráveis à incidência da antracnose, sendo possível observar o comportamento das variedades em duas safras;

Foi observada variabilidade genética entre as variedades crioulas de feijão fava quanto à resistência a *Colletotrichum truncatum*, onde as variedades UFPB04 e UFPB20 foram consideradas mais resistentes ao patógeno e com aptidão para serem usados em programas de melhoramento genético do feijão fava;

O método de inoculação por contato direto ao restritor hídrico de manitol por 36 h foi o mais adequado para inoculação do *C. truncatum* em sementes de feijão fava, visto que proporcionou uma maior taxa de transmissão, porém afetando levemente os parâmetros fisiológicas das sementes;

Os danos causados por *C. truncatum* no desempenho de sementes de feijão fava são crescentes com o aumento do tempo de exposição, independentemente do método de inoculação;

O uso de indutores de resistência bióticos (biomassa cítrica) e abióticos (acibenzolar-S-metilico, fosfito de K, argila silicatada e silicato de Ca e Mg) apresentam alto potencial para o combate à *C. truncatum* em plantas de feijão fava variedade UFPB04;

Os mecanismos de ação diferem entre os diferentes indutores, difere quando combinado com o fungicida e entre as duas regiões de cultivo do feijão fava, além disso apresenta uma leve redução na produtividade com adição do fungicida aos indutores, efeito considerado normal no custo do manejo integrado de doenças.

APÊNDICE

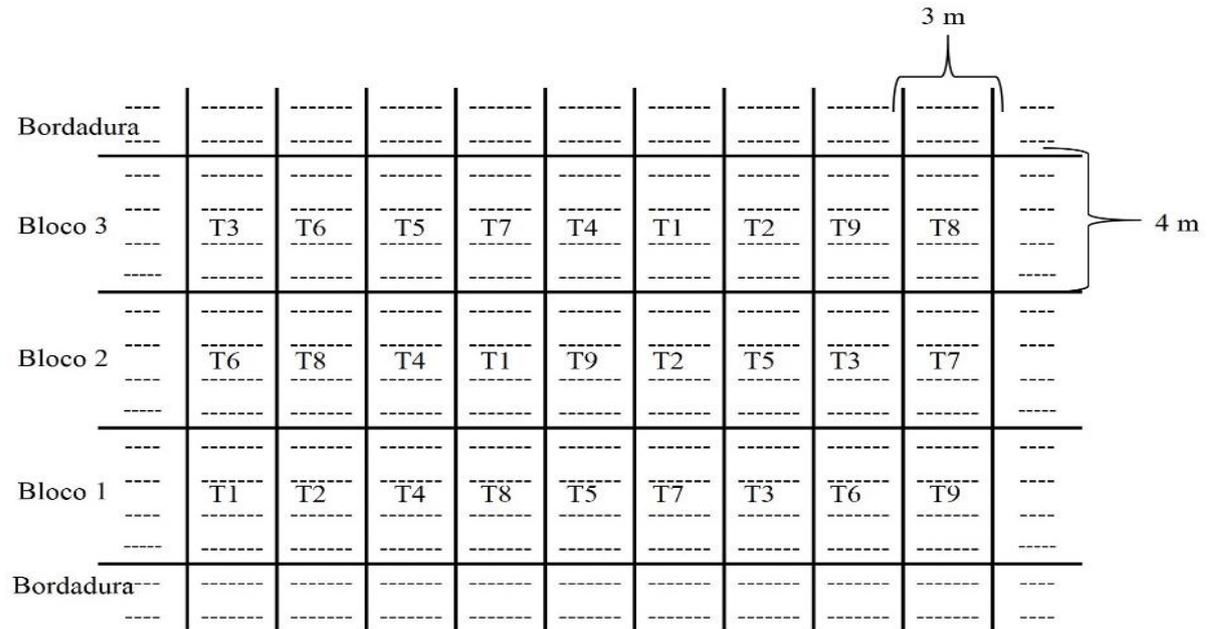


Fig. 1 - Croqui da área experimental de estudo de epidemiologia da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e disposição das variedades de feijão fava (*Phaseolus lunatus*) nas parcelas, na fazenda experimental Chã de Jardim, no município de Areia, Paraíba, nos anos 2015 e 2017. T1= UFPB02; T2= UFPB04; T3=UFPB05; T4= UFPB06; T5= UFPB11; T6= UFPB13; T7= UFPB14; T8= UFPB19 e T9= UFPB20

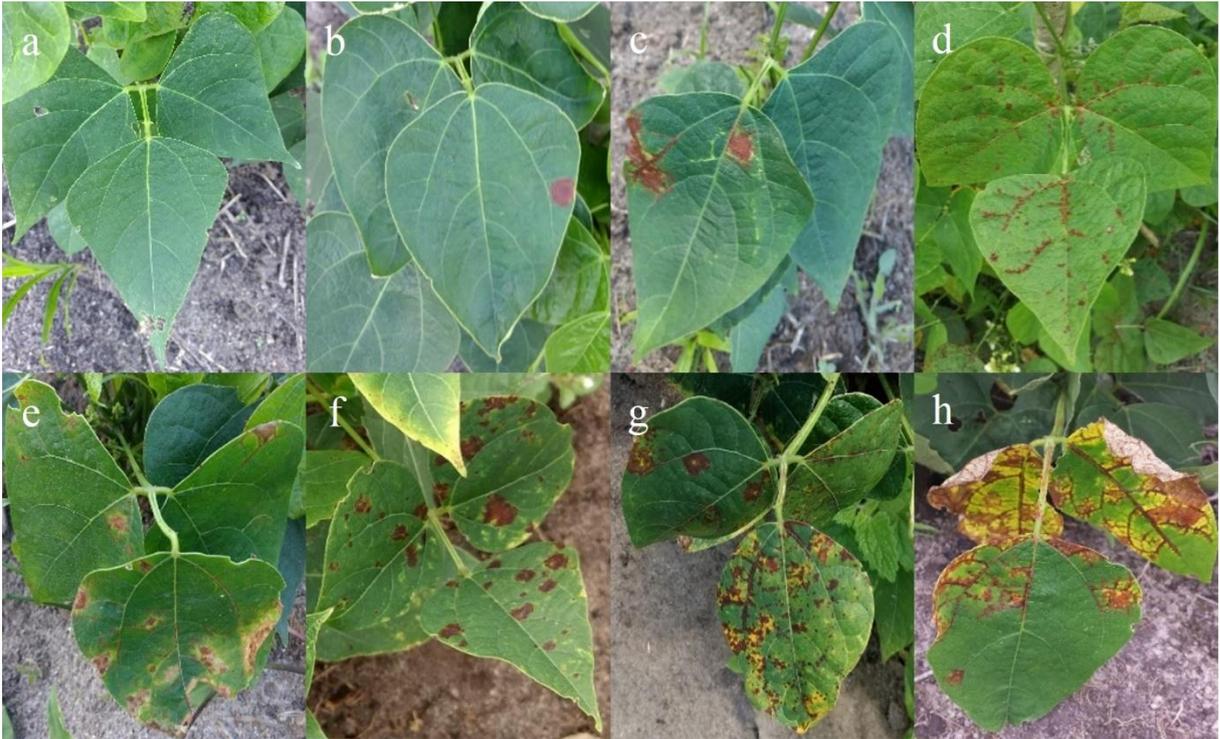


Fig. 2 - Severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) sob folhas de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), atribuindo-se notas de 0% (a), 0.13% (b), 0.47% (c), 0.64% (d), 1.26% (e), 3.07% (f), 7.53% (g) e 14.81% (h) de área foliar infectada, conforme escala diagramática adaptada de Dalla Pria e Amroim (2010).



Fig. 3 - Área experimental de estudo de epidemiologia da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) feijão fava (*Phaseolus lunatus*), plantas em estágio R9 (maturação de grãos), no município de Areia, Paraíba, nos anos 2015 (a) e 2017 (b).



Fig. 4 - Severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em caules de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), aos 15 dias após a semeadura, onde: 1 = ausência de sintomas (a); 2 = sintomas de clorose ou necrose, com (b) e sem (c) paralisação do crescimento e 3 = plântulas mortas (d), adaptado de Raouf e Rao (1996).

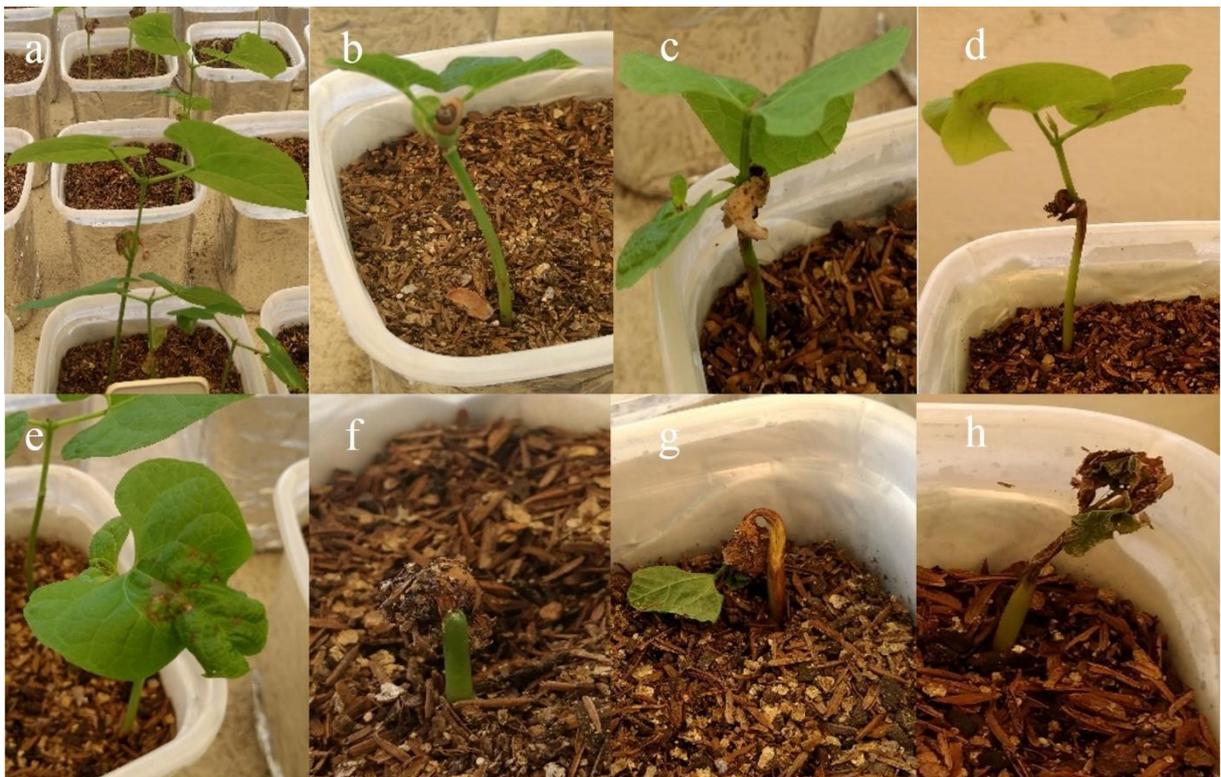


Fig. 5 - Severidade da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) em plântulas de feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), aos 15 dias após semeadura, onde: 0 = sem sintomas (a); 1 = lesão no coleto de até 1 cm (superficial) (b); 2 = lesão no coleto maior que 1 cm (deprimida) (c); 3 = pontuações, mancha necrótica, lesão no pecíolo (d); 4 = perfurações na folha (e); 5 = morte do meristema apical (f); 6 = plântula em colapso parcial (g) e total (morte) (h), escala de notas adaptada de Souza et al. (2014).

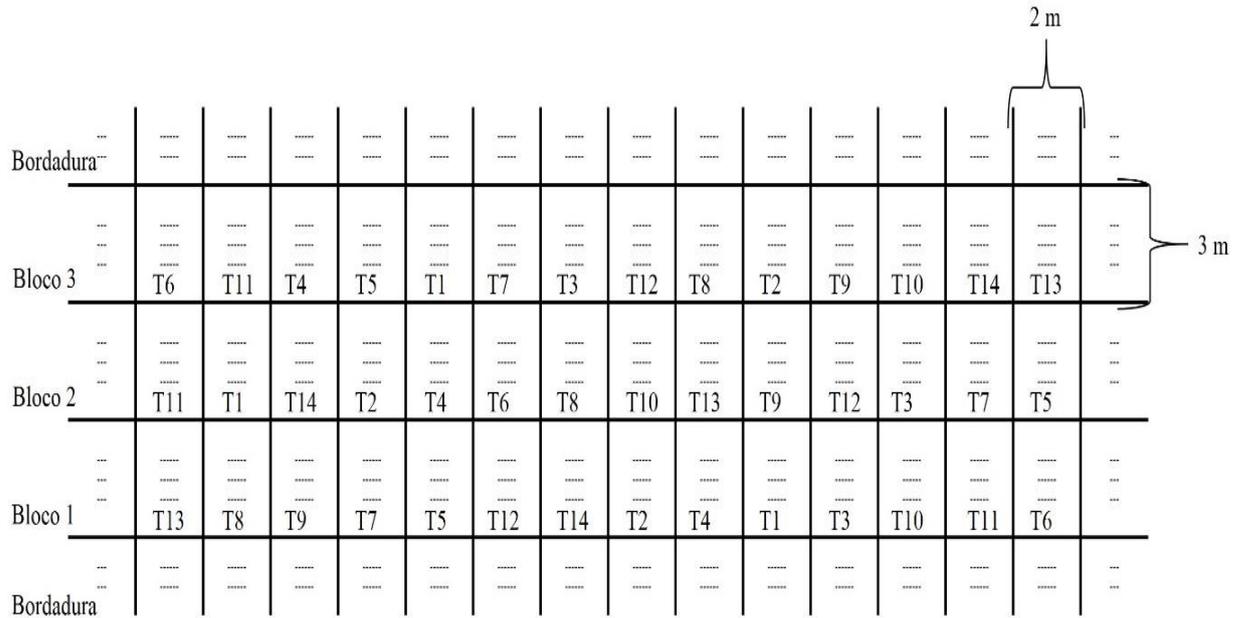


Fig. 6 - Croqui da área experimental de estudos de controle da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) do feijão fava (*Phaseolus lunatus*) e disposição dos tratamentos nas parcelas, nas duas regiões de cultivo, municípios Areia e Lagoa Seca, Paraíba, no ano 2017.



Fig. 7 - Área experimental de estudos de controle da antracnose (*Colletotrichum truncatum*) do feijão fava variedade UFPB04 (*Phaseolus lunatus*), plantas em estágio R6 (floração), nos municípios de Areia (a) e Lagoa Seca (b), Paraíba, no ano 2017.

ANEXOS

Equação 1: Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD)

$$AACPD = \sum_i^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) \times (t_{i+1} - t_i), \text{ conforme (Campbell; Madden, 1990) onde:}$$

n = o número de avaliações;

y_i e y_{i+1} = notas de severidade da doença, observados em duas avaliações consecutivas;

$(t_{i+1} - t_i)$ = intervalo entre duas avaliações.

Equação 2: Índice de doença (ID)

$$ID(\%) = \frac{n \times v}{N \times V} \times 100, \text{ conforme (Erkilic et al., 2006) onde:}$$

n = nota da doença, de acordo com a escala de severidade da doença;

v = número de plantas com essa nota;

N = número total de plantas;

V = nota máxima.

Equação 3: Taxa de transmissão (TT)

$$TT (\%) = \frac{TI (\%)}{IS (\%)} \times 100, \text{ onde:}$$

TI = taxa de infecção em plantas de feijão fava com sintomas de *C. truncatum* (Teixeira; Machado, 2003);

IS = incidência da doença em sementes inoculadas artificialmente.