



GLEICE APARECIDA DA SILVA LIMA

**VIABILIDADE DE INOCULAÇÃO DE VAGENS DE
FEIJOEIRO COM DIFERENTES ISOLADOS DE
Colletotrichum spp.**

**LAVRAS - MG
2019**

GLEICE APARECIDA DA SILVA LIMA

**VIABILIDADE DE INOCULAÇÃO DE VAGENS DE FEJJOEIRO COM
DIFERENTES ISOLADOS DE *Colletotrichum* spp.**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a
obtenção do título de Bacharel.

Professora Dra. Elaine Aparecida de Souza
Orientadora

Dra. Fernanda Aparecida Castro Pereira
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2019**

GLEICE APARECIDA DA SILVA LIMA

**VIABILIDADE DE INOCULAÇÃO DE VAGENS DE FEIJOEIRO COM
DIFERENTES ISOLADOS DE *Colletotrichum* spp.**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 20 de novembro de 2019.
Dra. Elaine Aparecida de Souza, UFLA
Dra. Fernanda Aparecida Castro Pereira, UFLA
Me. Mariana Andrade Dias, UFLA

Dra. Elaine Aparecida de Souza
Orientadora

Dra. Fernanda Aparecida Castro Pereira
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2019**

*A Deus por guiar e iluminar meus passos.
Aos meus pais, Luiz e Rita, pelo amor, compreensão, apoio e paciência;
Aos meus irmãos, Anderson e Alisson, pelo companheirismo de toda
vida e por toda paciência e amor!
Ao meu padrinho, Aurimar, por todo amor e amizade!*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que está sempre a frente em toda minha vida, me iluminando, confortando nas horas difíceis, abençoando com o dom da vida e com cada conquista alcançada. Sem Ele, nada disso seria possível!

À minha mãe, Rita, por ser meu maior exemplo de fé, força e bondade. Por estar sempre ao meu lado, apoiando, incentivando e acreditando nos meus sonhos. A você, minha eterna gratidão e amor!

Ao meu pai, Luiz, por todo apoio, confiança e ensinamentos que serviram de alicerce para as minhas conquistas. Pelo amor e carinho que sempre me foi doado!

Aos meus irmãos, Anderson e Alisson, pelo companheirismo, paciência, carinho e amor. Por estarem sempre ao meu lado, acreditando e apoiando, e por todos os momentos de alegria proporcionados!

Ao meu padrinho, Aurimar, que sempre esteve ao meu lado, apoiando e acreditando nos meus sonhos. Por ser meu exemplo de humildade e bondade, e por todo amor a mim confiado!

A minha avó, Maria Geni e, ao meu avô, Jorge (*In Memoriam*), por todo amor, ensinamentos e oração. Por serem meu porto seguro na vida.

Aos meus avós paternos, Maria Isabel e Argentino (*In Memoriam*), por serem exemplos de força e honestidade.

A todos os meus familiares e amigos, pelo apoio, carinho e compreensão.

A Universidade Federal de Lavras por proporcionar um ensino de alta qualidade.

A professora e orientadora, Elaine Aparecida de Souza, pela oportunidade, confiança, ensinamentos compartilhados.

A coorientadora, Fernanda Aparecida Castro Pereira, por todo apoio, paciência, ensinamentos, amizade e dedicação na condução deste trabalho.

A Mariana Andrade Dias, por ter aceito o convite de ser membro da banca, e pela amizade e companhia proporcionada.

Aos companheiros do Laboratório de Resistência de Plantas a doenças, Mariana, Ana Carolina, Paula, Nathália, Alex, Karina, Adilson, Rafael e Kátia, por toda ajuda na condução deste trabalho, pelos conselhos, amizade e convivência diária.

Ao laboratorista Miller pela ajuda, dedicação, conselhos e ensinamentos compartilhados.

Ao grupo PET Agronomia, por todos os ensinamentos, amizade e companheirismo.

A Atlética Tatuzada, por me acolher e proporcionar grandes amizades.

As minhas amigas Gabriela e Karolina, por todo apoio, carinho, e por permanecerem sempre ao meu lado.

Aos meus amigos, Eric Matioli, Evandro Lerme, Fabio Henrique, Gustavo Reis, Isaias Ribeiro, José Enrico, Junior Resende, Rafael Romaniello, Vinicius Pedrosa, Amanda Antão, Anna Caroline Meyer, Izabela Avelar e Maria Paula Vilas Boas, por todo apoio, conselhos e carinho.

Aos professores, João Almir Oliveira e Silvino Guimarães, por todo ensinamento, conselho e amizade.

A todos os meus amigos de graduação, que vão deixar saudade dos momentos de alegria vividos.

A todos que contribuíram para a realização desse trabalho, e por mais essa conquista em minha vida.

RESUMO

A antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* é uma das principais doenças que afetam o feijoeiro comum. Recentemente, uma doença emergente do feijoeiro, a sarna, tem sido associada ao gênero *Colletotrichum*. A transmissibilidade desses patógenos por sementes, é um dos principais fatores de desenvolvimento da antracnose e possivelmente da sarna, pois é uma fonte de inóculo primário. Objetivou-se com esse trabalho, testar a viabilidade de inoculação nas vagens para a obtenção de sementes de feijoeiro infectadas. Foram conduzidos seis experimentos no delineamento inteiramente ao acaso (DIC), com quatro tratamentos, e duas repetições. Em cada experimento foram utilizados, quatro cultivares de feijoeiro, duas resistentes (BRSMG UAI; BRS Esplendor), e duas suscetíveis (BRS Pérola; BRSMG Madrepérola), cinco isolados, sendo dois isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* da raça 65 (LV134 e LV238) e três de *Colletotrichum* spp. (13-1A1, 13-2A, 19-1A), e um controle. As vagens das plantas no estágio R7 foram feridas com uma lixa e inoculadas com uma suspensão de conídios. Após a colheita, as sementes foram classificadas quanto à presença ou ausência de manchas e calculada a porcentagem de grãos manchados. Na análise de variância foram observadas diferenças significativas entre Cultivares e Isolados. Entre as cultivares, a BRS Esplendor apresentou menor porcentagem de grãos manchados, o que poderia indicar que as manchas estão associadas à presença do fungo. Os isolados 13-1A1, 13-2A, 19-1A e LV238 causaram maior porcentagem de sementes manchadas em todas as cultivares. Entretanto o isolado LV134 apresentou menor porcentagem de manchas nas sementes. Dessa forma, a metodologia de inoculação em vagens de feijoeiro é viável para a obtenção de sementes infectadas com isolados de *Colletotrichum* spp. No entanto sugere-se que novos experimentos devam ser conduzidos para uma avaliação criteriosa da transmissibilidade de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro.

Palavras-chave: Inoculação artificial. Sarna. Antracnose

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	10
2.1 A cultura do feijoeiro.....	10
2.2 Antracnose.....	10
2.3 Sarna.....	11
2.4 Transmissibilidade do patógeno.....	12
2.5 Inoculação artificial do patógeno em sementes.....	13
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 Local.....	15
3.2 Teste de patogenicidade.....	15
3.3 Análises estatísticas.....	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	17
5 CONCLUSÃO.....	22
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma cultura de grande importância nacional, sendo o Brasil o maior produtor e consumidor. Dentre os principais fatores limitantes da produtividade do feijoeiro, destacam-se as doenças, em especial as fúngicas. Uma das doenças fúngicas é a antracnose, que tem o início dos sintomas ainda na fase de plântula, evoluindo posteriormente para toda a parte aérea da planta. O agente causal é o fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, cujo veículo de disseminação e sobrevivência são as sementes e os restos culturais (MIGLIORINI et al., 2017). Outra doença é a sarna do feijoeiro comum, considerada emergente, e que tem sido associada ao gênero *Colletotrichum*. Sua ocorrência é favorecida por temperaturas altas, alta umidade e cultivo de feijão após culturas de milho ou sorgo, podendo causar grandes perdas de produtividade na lavoura (SARTORATO; LOBO JÚNIOR; DI STEFANO, 2005).

No manejo de doenças fúngicas podem ser adotado algumas estratégias, como controle químico por meio de fungicidas, controle biológico, rotação de culturas e a utilização de cultivares resistentes. Entretanto, o uso indiscriminado de defensivos químicos tem causado impactos negativos no meio ambiente, principalmente a seleção de populações resistentes de fungos aos fungicidas (ALVES, 2016). A adoção de cultivares resistentes, é a principal alternativa de controle da antracnose. Embora, a ampla variabilidade entre isolados e raças seja um fator limitante na durabilidade dessa resistência. Com isso, é necessária uma metodologia eficaz que reproduza os sintomas ainda nas vagens, garanta a infecção das sementes e desenvolvimento da doença, sem alterar o potencial germinativo e vigor.

O uso de inoculação em vagens de feijoeiro sob condições controladas, tem se mostrado eficaz na produção de sementes infectadas, com diferentes níveis de inóculo (LAMPPA; HALVORSON; PASCHE, 2016). Portanto, o objetivo deste trabalho foi testar a viabilidade de inoculação nas vagens para a avaliação da antracnose e da sarna em sementes de feijoeiro.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do feijoeiro

Segundo Gepts e Debouk (1991) o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) evoluiu de uma simples planta selvagem da América Central e Andes, tornando-se uma das mais importantes leguminosas produzidas e consumidas no mundo. A expansão dessa espécie para a América do Sul culminou na formação de dois grandes conjuntos genéticos geograficamente distintos, o Mesoamericano e o Andino.

O feijão é a leguminosa mais importante para alimentação humana e umas das principais fontes de proteína na América Latina e na África. A área mundial ocupada é de aproximadamente 27 milhões de hectares, com uma produção média de 24 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2019). O Brasil é o terceiro maior produtor de feijão no mundo, e o primeiro do gênero *Phaseolus* (FAOSTAT, 2019), com aproximadamente 3 milhões de hectares plantados, foi encerrada a safra 2018/2019 com uma produção estimada de 3,02 milhões de toneladas (CONAB, 2019). O estado de Minas Gerais é o segundo maior produtor nacional, no entanto, para a primeira safra de 2019/20 há uma estimativa de redução de 0,5 % da área cultivada, apesar desse declínio, estima-se que a produtividade se recupere e aumente 5,6% em relação ao obtido no ano anterior (CONAB, 2019).

O feijão comum pertence à família Leguminosae (Fabaceae), gênero *Phaseolus* L., sendo a espécie *Phaseolus vulgaris* L. a mais cultivada. É uma espécie autógama, apresentando 1% de fecundação cruzada devido a cleistogamia (POSSE, 2010). O cultivo do feijoeiro é realizado em três safras ao longo de um ano agrícola. A primeira safra ou “safra das águas”, a semeadura ocorre entre agosto e outubro, podendo se estender até novembro. A colheita a partir de novembro até março, em um período de grande ocorrência de chuvas, favorece o desenvolvimento de doenças fúngicas, como a antracnose. A segunda safra ou “safra da seca” ou “safrinha”, tem semeadura de janeiro a abril e colheita de maio a julho. A terceira safra, conhecida como “safra de inverno” ou “safra irrigada”, tem semeadura a partir de maio e colheita entre agosto e outubro (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

2.2 Antracnose

A antracnose do feijoeiro, causada pelo fungo *C. lindemuthianum*, em condições favoráveis, pode causar perdas de até 100% no rendimento da cultura, além de provocar depreciação na qualidade dos grãos, devido à ocorrência de manchas, resultando em uma desvalorização comercial do produto (COSTA et al., 2016).

A utilização de cultivares resistentes é o método de controle mais confiável para se reduzir as perdas (MUNDT et al., 2014). No entanto, a alta variabilidade patogênica da espécie *C. lindemuthianum* é um dos fatores limitantes para a obtenção de resistência durável (BARCELOS, 2014). Já foram identificadas mais de 114 raças deste fungo, ocorrendo no Brasil aproximadamente 50 delas, sendo as raças mais frequentes identificados como 65, 73, 77, 81 e 87 (PAULA JÚNIOR et al., 2015).

Os sintomas podem ocorrer em toda a parte aérea da planta. Quando em plântulas, apresentam lesões pequenas de coloração marrom escura nos cotilédones, e o hipocótilo pode apresentar lesões alongadas, superficiais ou deprimidas (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005). No pecíolo e no caule as lesões são geralmente ovaladas, deprimidas e de coloração escura. Nas folhas as lesões se iniciam na face abaxial, ao longo das nervuras, com pequenas manchas pardo-avermelhada, as quais apresentarão cor café escura à negra, posteriormente. Quando a infecção é severa, formam-se manchas necrosadas nos tecidos próximos as nervuras. Nas vagens os sintomas são mais definidos (SARTORATO; RAVA, 1994), sendo circulares e deprimidas, de coloração marrom, com bordos escuros e salientes, circundados por um anel pardo-avermelhado. As lesões podem coalescer e cobrir as vagens. As sementes infectadas são geralmente descoloridas e com lesões levemente deprimidas e de coloração marrom (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005). A doença é favorecida por temperaturas entre 13 e 27°C, sendo a ótima de 21°C e umidade relativa acima de 91%. Os sintomas podem ocorrer a partir de 6 dias após a infecção. Sementes contaminadas constituem a principal forma de sobrevivência e disseminação de *C. lindemuthianum*, sendo fonte de inóculo primário no estabelecimento da cultura (SILVA; POZZA; MACHADO, 2013).

Produtores tem adotado algumas práticas culturais, como tratamento de sementes com fungicida, rotação de culturas com espécies não hospedeiras, remoção dos restos culturais e a utilização de controle biológico (WENDLAND et al., 2016), apresentando resultados promissores para o controle da antracnose em plantas de feijão.

2.3 Sarna

A sarna do feijoeiro, é uma doença emergente, podendo causar perdas significativas na lavoura, encontra-se distribuída nos estados de Minas Gerais e Goiás. Os primeiros sintomas surgem ainda no estágio de plântula, apresentando uma região do tecido mais clara acima do colo da planta, com o avanço da doença o tecido torna-se necrosado com uma coloração castanha, crescendo no sentido longitudinal podendo tomar todo o diâmetro do caule,

culminando na murcha e morte da planta (SARTORATO; LOBO JÚNIOR; DI STEFANO, 2005). As folhas e as vagens, apresentam lesões pequenas de coloração avermelhada (COSTA et al., 2001).

Segundo Costa (2001) o agente etiológico é o *Colletotrichum truncatum*. No entanto, ainda há dúvidas sobre o agente etiológico da doença, como relatado por Mota et al. (2016). Algumas pesquisas têm sugerido se tratar de um complexo de espécies do gênero *Colletotrichum* associados a essas doenças (BARCELOS et al., 2014; DIAS 2019).

As condições ideais para a ocorrência da doença são temperaturas altas, em torno de 28°C, alta umidade relativa e o plantio de feijão após a cultura do milho ou sorgo (MELO, 2009). O inóculo primário consiste de sementes infectadas e restos culturais, sendo as sementes o principal agente de disseminação a longas distâncias acompanhada de chuvas, ventos e implementos agrícolas. Por se tratar de uma doença emergente, formas de controle ainda não foram bem estabelecidas. No entanto, a adoção de sementes certificadas e de boa qualidade fitossanitária, a principal forma de controle (SARTORATO; LOBO JÚNIOR; DI STEFANO, 2005).

2.4 Transmissibilidade do patógeno

As sementes são responsáveis pela propagação de quase 90% das culturas utilizadas para a alimentação humana ou animal (HENNING, 2005). O uso de sementes sadias, com alto vigor e tratadas com fungicidas é essencial na redução de riscos de uma lavoura. No entanto, plantas originadas de grãos ou sementes de má qualidade não atingem o potencial produtivo das cultivares (LOBO JÚNIOR; BRANDÃO; MARTINS, 2013).

O principal meio de disseminação e sobrevivência dos patógenos tem sido associado às sementes. Quando associados aos fungos, as sementes, reduzem a germinação e vigor, além de apresentarem maior deterioração no armazenamento e introdução de patógenos em novas áreas, o que implica em custos altos com fungicidas e riscos de se ter uma lavoura potencialmente comprometida, afetando a quantidade e qualidade do produto final (LOBO JÚNIOR; BRANDÃO; MARTINS, 2013; MACHADO, 1988).

Os fungos são os principais patógenos associados às sementes (MACHADO et al., 1994), e na cultura do feijoeiro, o *C. lindemuthianum* é potencialmente transmitido por essa via, através de infecção e infestação (BARBOSA; GONZAGA, 2012). De acordo com o Grupo Técnico Permanente em Sanidade de Sementes (GTPSS), os níveis de tolerância de *C. lindemuthianum* em sementes de feijão, é de zero/lote, sendo que todos os lotes devem ser submetidos a análise sanitária (HENNING, 2005).

A transmissão está condicionada à severidade da infecção do fungo nas sementes, e amplamente relacionada com o tamanho da lesão e a porcentagem de inóculo na mesma (MACHADO, 1994), bem como, o potencial de inóculo e sua localização na semente são extremamente importantes no processo infeccioso (TANAKA; MACHADO, 1985). Assim, entender o progresso da doença no tempo e no espaço, das variáveis climáticas e do estágio fenológico do hospedeiro auxilia no estabelecimento de padrões de tolerância para patógenos em sementes (TAYLOR; PHELPS; DUDLEY, 1979).

Segundo Menten e Bueno (1987) a transmissibilidade pode ser mensurada, por meio da visualização de sintomas nas plântulas, admitindo-se que a única forma de transmissão teve origem nas sementes. O fungo *C. lindemuthianum* apresenta taxas de transmissão para plântulas de até 80% em algumas raças (REY et al., 2009). Dessa forma, a utilização de sementes certificadas com elevado padrão de sanidade e a utilização de cultivares resistentes é uma das formas efetivas de controle da doença (MUNDT, 2014; SILVA, 2008).

2.5 Inoculação artificial do patógeno em sementes

Inoculações artificiais em sementes de feijoeiro são recorrentemente utilizadas em programas de melhoramento visando resistência a antracnose. Os diferentes métodos de inoculação, devem garantir a expressão e reprodução dos sintomas típicos da doença, sem comprometer o potencial germinativo e a emergência de plântulas, possibilitando futuras avaliações (SOUSA et al., 2008).

A utilização de inoculação direta em sementes, por suspensão de esporos, contato da semente com a colônia fúngica em meio de cultura, e/ou emprego de condicionamento osmótico pode ser fonte de variabilidade nos resultados (MIGLIORINI et al., 2017). Estudos conduzidos por Conner (2009), demonstraram que sementes expostas ao fungo em meio BDA (Batata dextrose agar), produziram diferentes níveis de infecção, apresentando posteriormente, o desenvolvimento de antracnose na parte aérea e vagens da cultura. Já, em Tu et al (1983), foi testado a transmissão da antracnose utilizando sementes infectadas no campo, e sementes revestidas com suspensão de esporos, obtendo bons resultados para avaliação de sintomas nas plantas.

No entanto, uma nova metodologia proposta por Lamppa, Halvorson e Pasche (2016), em que a inoculação é realizada nas vagens de feijoeiro, condicionando diferentes níveis de inóculos, e garantindo a produção de sementes infectadas, tem se mostrado positiva para avaliações de doenças como a antracnose e sarna, onde os principais sintomas são observados nas vagens. Essa técnica também permite futuras avaliações, como transmissão semente-

plântula, níveis de descoloração da semente, e reprodução de sintomas de plantas oriundas das sementes infectadas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças e em casa de vegetação, situados no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, localizado no município de Lavras, MG.

3.2 Teste de patogenicidade

Foram avaliadas quatro cultivares de feijoeiro, sendo duas resistentes (BRSMG UAI e BRS Esplendor) e duas suscetíveis (BRS Pérola e BRSMG Madrepérola) e cinco isolados, sendo dois isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* da raça 65 (LV134 e LV238) e três de *Colletotrichum* spp.(13-1A1, 13-2A, 19-1A)(TABELA 1).

Tabela 1 – Caracterização dos isolados quanto à amplificação para primers espécie-específicos e sintoma das vagens.

Isolados	Amplificação	Sintomas em vagens
13-1A1	<i>Glomerella lindemuthianum</i>	Antracnose e Sarna
13-2A	<i>Glomerella lindemuthianum</i>	Sarna
LV 134	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	Antracnose
19-1A	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	Sarna
LV 238	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	Antracnose

Fonte: Dias et al. (2017).

Foram conduzidos seis experimentos nodelineamento inteiramente ao acaso (DIC), com quatro tratamentos (cultivares), sendo a parcela constituída de um vaso com três plantas, contendo terra e substrato Multiplanta® na proporção de 2:1. Em cada experimento as cultivares avaliadas tiveram suas vagens feridas e inoculadas com cada um dos cinco isolados do patógeno e outro as vagens foram feridas, porém não inoculadas, sendo o tratamento controle.

Foram semeadas cinco sementes por vaso de cada cultivar e posteriormente, realizado o desbaste para três plantas. A inoculação das plantas foi realizada no estágio R7, ou seja, quando 50% das vagens apresentavam o máximo comprimento. Estas vagens, foram feridas com uma lixa comum de parede nº 220 e inoculadas com uma suspensão de conídios.

Para a obtenção das suspensões de conídios os isolados foram crescidos em tubos contendo vagens de feijoeiro estéreis e placas de Petri em meio M3, por 15 dias à 23° C.

A suspensão de esporos foi obtida por meio de raspagem dos tubos e placas com água destilada estéril, e a concentração de esporos ajustada para $1,0 \times 10^6$ conídios/ml, com o auxílio da câmara de Neubauer.

A inoculação foi realizada por meio de 3 a 4 borrifadas (borrifador manual comum) da suspensão de esporos nas vagens feridas com a lixa. As plantas foram mantidas em uma câmara de nebulização por 72 horas, com fotoperíodo de 12 horas, temperaturas de 23°C e umidade relativa de 80%. Posteriormente, os vasos foram transferidos e mantidos até a colheita em casa de vegetação. Após a colheita os grãos foram classificados quanto à presença ou ausência de manchas, sendo estimada a porcentagem de sementes com manchas de cada tratamento.

3.3 Análises estatísticas

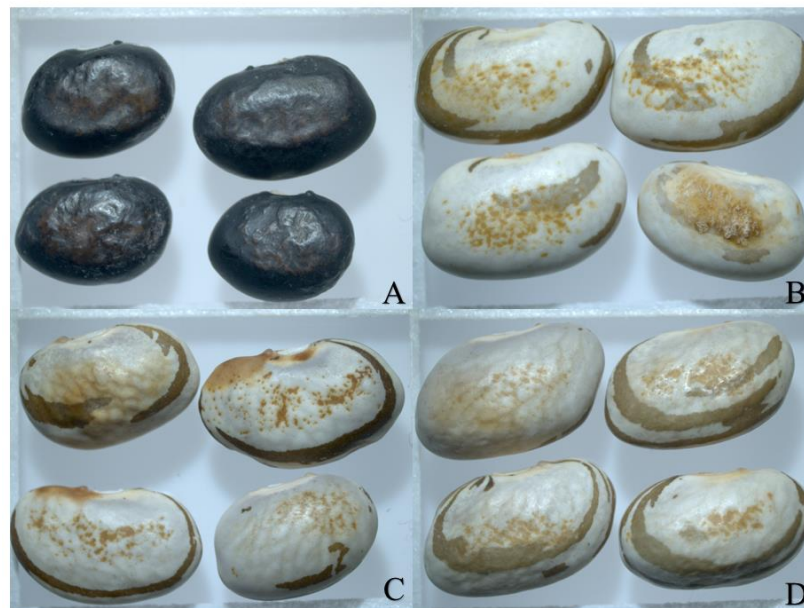
Para atender as pressuposições da análise de variância foi necessário transformar os dados pela fórmula: $\sqrt{x + 1}$. Assim foi realizada uma análise de variância para a porcentagem de grãos manchados e o agrupamento das médias originais pelo teste de Scott-Knott à 5% (SCOTT-KNOTT, 1974), no programa GENES (CRUZ, 2013).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As lesões nas sementes foram observadas em todas as cultivares avaliadas nos experimentos inoculados com os isolados do patógeno (FIGURAS 1 a 5). A intensidade e formato das manchas foram variáveis entre as cultivares e isolados avaliados, não sendo observadas lesões nas sementes oriundas do experimento onde as vagens não foram inoculadas (FIGURA 6). Conner et. al. (2009) constatou que o aumento de sementes infectadas, resultou em aumentos lineares para sementes manchadas, ocasionando grandes perdas por desclassificação do produto. Yesuf e Sangchote (2007) também observaram descoloração e manchas nas sementes oriundas de plantas naturalmente infectadas. Essas manchas podem vir a afetar seriamente o valor de mercado do feijão comum.

As cultivares com grãos tipo Carioca apresentaram manchas pardas e amarronzadas, no entanto, na cultivar BRS Esplendor, de grãos pretos, as manchas foram arroxeadas (FIGURAS 1 a 5).

Figura 1 – Lesões nas sementes, oriundas de vagens inoculadas com o isolado 13-1A1.



Legenda: A) BRS Esplendor; B) BRSMG Madrepérola; C) BRS Pérola; D) BRSMG Uai
 Fonte: Do autor (2019)

Figura 2 – Lesões nas sementes, oriundas de vagens inoculadas com o isolado 13-2A.



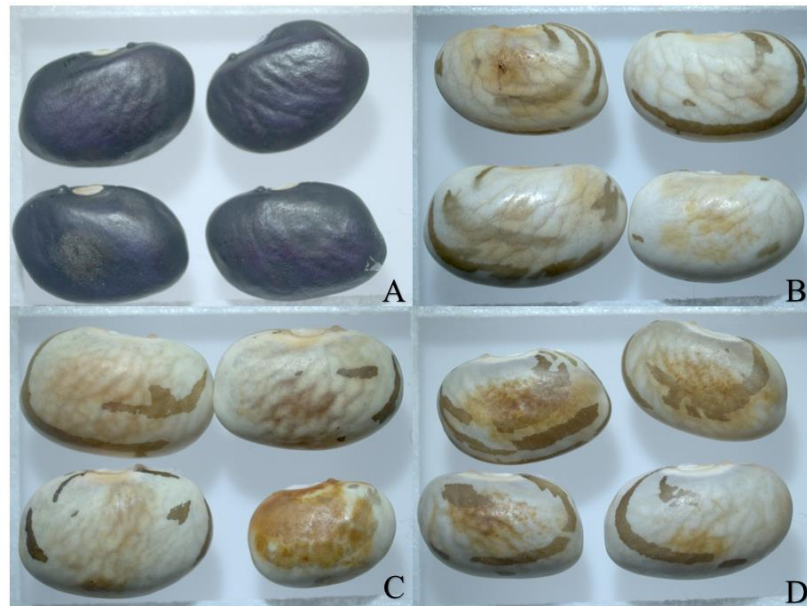
Legenda: A) BRS Esplendor; B) BRSMG Madrepérola; C) BRS Pérola; D) BRSMG Uai
Fonte: Do autor (2019)

Figura 3 – Lesões nas sementes, oriundas de vagens inoculadas com o isolado LV134.



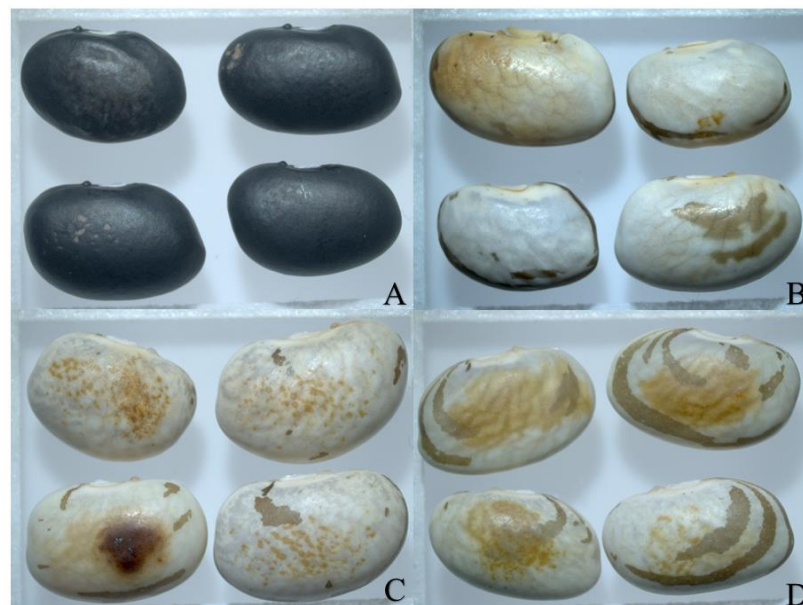
Legenda: A) BRS Esplendor; B) BRSMG Madrepérola; C) BRS Pérola; D) BRSMG Uai
Fonte: Do autor (2019)

Figura 4 – Lesões nas sementes, oriundas de vagens inoculadas com o isolado 19-1A.



Legenda: A) BRS Esplendor; B) BRSMG Madrepérola; C) BRS Pérola; D) BRSMG Uai
 Fonte: Do autor (2019)

Figura 5 – Lesões nas sementes, oriundas de vagens inoculadas com o isolado LV238.



Legenda: A) BRS Esplendor; B) BRSMG Madrepérola; C) BRS Pérola; D) BRSMG Uai
 Fonte: Do autor (2019)

Figura 6 – Lesões nas sementes, oriundas de vagens não inoculadas (controle).



Legenda: A) BRS Esplendor; B) BRSMG Madrepérola; C) BRS Pérola; D) BRSMG Uai
Fonte: Do autor (2019)

Na análise de variância (TABELA2) para porcentagem de sementes manchadas houve significância ($p < 0,01$) para as fontes de variação Isolados e Cultivares separadamente.

Tabela 2 - Análise de variância da porcentagem de sementes manchadas de quatro cultivares quando inoculadas com os cinco isolados e o controle.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrados médios
Cultivares (C)	3	16,733 **
Isolados (I)	5	13,448 **
C x I	15	2,156
Resíduo	24	1,4889
Média		24,80%
CV (%)		26,04

Com base na significância foi possível realizar o agrupamento de médias considerando as médias originais dos isolados e das cultivares (TABELA 3).

Tabela 3 – Porcentagem média de sementes manchadas das cultivares de feijoeiro quando inoculadas com os cincoisolados.

Isolados/ Controle	Cultivares				Média
	BRS Pérola	BRSMG MadrePérola	BRSMG Uai	BRS Esplendor	
13-1A1	16,5	68,5	34,7	15,1	33,7 a
13-2A	50,0	43,3	46,9	17,8	39,5 a
LV134	14,5	12,6	24,4	3,2	13,7 b
19-1A	29,5	24,1	24,8	17,4	24,0 a
LV238	52,7	35,0	31,1	2,5	30,3 a
Controle	6,0	10,9	12,8	1,5	7,8 b
Média	28,2 A	32,4 A	29,1 A	9,6 B	

*Médias originais seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A cultivar BRS Esplendor apresentou a menor porcentagem de grãos manchados, embora o grão seja preto foi possível observar manchas de coloração arroxeadas (FIGURA 2A). Esses resultados confirmam a resistência dessa cultivar a diferentes isolados de *C. lindemuthianum*. Costa et al. (2017) verificaram que esta cultivar possui vários genes de resistência a diferentes isolados da raça 65, inclusive aos isolados LV134 e LV238, sendo que neste caso a resistência a cada um desses isolados é condicionada por genes duplicados, sendo que o alelo dominante confere a resistência.

Os isolados 13-1A1, 13-2A, 19-1A e LV238 causaram maior porcentagem de sementes manchadas na maioria das cultivares, como pode ser observado nas Figuras 1, 2, 4 e 5, respectivamente. Dias et al. (2017) avaliou a virulência desses isolados na cultivar Pérola e observou que todos os isolados se apresentaram virulentos, sendo os que amplificaram para o primer de *C. lindemuthianum* causaram maior severidade nas plantas do que os isolados de *Colletotrichum* spp. O isolado LV134 foi menos virulento no presente trabalho pois, foi observada menor porcentagem de sementes com manchas nas cultivares inoculadas com este isolado e também, as médias não diferiram estatisticamente do controle (TABELA3).

Os resultados obtidos no presente trabalho confirmam a viabilidade da inoculação em vagens de feijoeiro. No entanto, sugere-se que novos experimentos devam ser conduzidos para uma avaliação criteriosa da transmissibilidade de *C. lindemuthianum* em sementes de feijoeiro, visando detectar a presença do fungo e os sintomas nas plântulas obtidas das sementes infectadas por meio da metodologia avaliada no presente trabalho.

5 CONCLUSÃO

- A metodologia de inoculação em vagens de feijoeiro é viável para a obtenção de sementes infectadas com isolados de *Colletotrichum*.
- A cultivar BRS Esplendor apresentou maior nível de resistência aos cinco isolados de *Colletotrichum* avaliados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A.; NUNES, M. Uso de *Trichoderma* spp. no controle de doenças da cultura do feijoeiro. **Revista Técnico-Científica**, n. 4, 2016.

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C de O. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014. **Embrapa Arroz e Feijão-Documentos (INFOTECA-E)**, 2012.

BARCELOS, Q.L. et al. Characterization of *Glomerella* strains recovered from anthracnose lesions on common bean plants in Brazil. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, e90910, 2014.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. P. G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. Vol. 2. 4 ed. São Paulo: Editora Ceres, 2005. p. 333-349.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos** | v. 7 - Safra 2019/20, n.2 - Segundo levantamento, novembro 2019.

CONNER, R. L. et al. Seedborne infection affects anthracnose development in two dry bean cultivars. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 31, n. 4, p. 449-455, 2009.

COSTA, J. L. S. et. al. **Quem causa sarna**. Pelotas: Cultivar, 2001. 8p.

COSTA, J. G. C. et. al. **Reação à antracnose de variedades tradicionais de feijão-comum com grãos do tipo comercial vermelho**. Embrapa Arroz e Feijão-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E), 2016.

COSTA, L. C. et al. Are duplicated genes responsible for anthracnose resistance in common bean? **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, e0173789, 2017

CRUZ, C. D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DIAS, M. A. et al. Characterization of *colletotrichum* spp. strains from common bean anthracnose and scab lesions. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 60, p.7-8, mar. 2017.

DIAS, M. A. Variabilidade de *Colletotrichum* spp. e *Glomerella* spp. associadas a sarna e a antracnose do feijoeiro. 2019. 65 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

FAOSTAT. **Crops (Production)**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 22 mai. 2019.

GEPTS, P.; DEBOUCK, D. Origin, domestication, and evolution of the common bean. In: SCHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. (Ed.). **Common beans: research for crop improvement**. Wallingford: CAB; Cali: CIAT, 1991. p. 3-50.

HENNING, A.A. **Patologia e tratamento de sementes: noções gerais**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 52p. (Embrapa Soja. Documentos, 264).

LAMPPA, R.; HALVORSON, J. M.; PASCHE, J. S. Production of anthracnose infected dry bean seed under greenhouse conditions. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 59, p.123-124, abr. 2016.

LOBO JÚNIOR, M.; BRANDÃO, L. T. D.; MARTINS, B. E. de M. **Testes para avaliação da qualidade de sementes de feijão comum**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2013. 4 p. (Embrapa Arroz e Feijão, Circular Técnica, 90)

MACHADO, J.C. **Patologia de sementes**. São Paulo: Gráfica Nagy, 1988.

MACHADO, J.C Padrões de tolerância de patógenos associados à sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.2, p.229-263, 1994.

MELO, L. C. **Procedimentos para condução de experimentos de Valor de Cultivo e Uso em feijoeiro comum**. Embrapa Arroz e Feijão-Documents (INFOTECA-E), 2009.

MENTEN, J.O.M.; BUENO, J. T. **Transmissão de patógenos pelas sementes**. In: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes. Comitê de Patologia de Sementes. Patologia de Sementes. Fundação Cargill, Campinas, p. 164-191, 1987.

MIGLIORINI, P. et al. Métodos de inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão e danos em plântulas. **Biotemas**, Florianópolis, v. 30, n. 1, p. 37-43, fev. 2017.

MOTA, S. F. et al. Variability of *Colletotrichum* spp in common bean. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, 2016.

MUNDT, C.C. Durable resistance: a key to sustainable management of pathogens and pests. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 27, p. 446-455, 2014.

PAULA JÚNIOR, T. J. de. et al. Doenças do feijoeiro: estratégias integradas de manejo. In: CARNEIRO, J. E.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; BORÉM, A. **Feijão - do plantio à colheita**. Editora UFV: Viçosa, p.270-299. 2015.

POSSE, S. C. P. et. al. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central-brasileira**, Incaper, Vitória – ES, 2010.

REY, M. S. et al. Transmissão semente-plântula de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 76, n. 3, p. 465-470, 2009.

SARTORATO, A.; LOBO JÚNIOR, M.; DI STEFANO, J. G. **Feijão: qualidade perdida**. Cultivar Grandes Culturas, Pelotas, v. 7, n. 73, p. 3-10, maio 2005. 10 p. Caderno técnico cultivar.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A. Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. **EMBRAPA-CNPAF. Documentos**, 1994.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Arlington, v. 30, n. 3, p. 507–512, 1974.

SILVA, G. C. et al. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) provenientes do estado de Goiás.** *Semina: Ciências Agrárias*, v. 29, n. 1, p. 29-34, 2008.

SILVA, M. G.; POZZA, E. A.; MACHADO, J. C. Influence of contaminated crop remains and seed health quality on the intensity of bean anthracnose. ***Journal of Agricultural Science***, v.5, n. 10, p. 56-66. 2013.

SOUSA, M. V. et al. Métodos de inoculação e efeitos de *Fusariumoxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro. ***Tropical Plant Pathology***, Brasília, v. 33, n. 1, p. 41-48, 2008.

TANAKA, M.A.S.; MACHADO, J.C. **Patologia de sementes.** Informe Agropecuário 11:40-46. 1985.

TAYLOR, J.D.; PHELPS, K.; DUDLEY, C.L. **Epidemiology and strategy for the control of halo-blight of beans.** *Annals of applied biology*, v.93, p.167-172, 1979.

TU, J. C. et al. Epidemiology of anthracnose caused by *Colletotrichum lindemuthianum* on white bean (*Phaseolus vulgaris*) in southern Ontario: survival of the pathogen. ***Plant Disease***, v. 67, n. 4, p. 402-404, 1983.

WENDLAND, A. et al. **Doenças do feijoeiro.** IN: AMORIM, L. et al. Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres. p. 383-396.2016.

YESUF, M.; SANGCHOTE, S. Survival and transmission of *Colletotrichum lindemuthianum* from naturally infected common bean seeds to the seedlings. ***Tropical Science***, v. 47, n. 2, p. 96–103, 2007.