



**Mistura de fosfito de potássio com aminoácido visando o controle da  
antracnose do feijoeiro**

**Flávio Martinuzzo Contento**



**Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo**  
**Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios**  
**Instituto Biológico**  
**Programa de Pós-Graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no**  
**Agronegócio**

**Mistura de fosfito de potássio com aminoácido visando o controle da**  
**antracnose do feijoeiro**

**Flávio Martinuzzo Contento**

Defesa apresentada para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio. Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

São Paulo  
2021

**Flávio Martinuzzo Contento**

**Mistura de fosfito de potássio com aminoácido visando o controle da  
antracnose do feijoeiro**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de  
Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar  
Ambiental no Agronegócio.

Área de concentração: Segurança Alimentar e  
Sanidade no Agroecossistema.

Orientador: Prof. Dr. César Júnior Bueno

São Paulo  
2021

Eu Flávio Martinuzzo Contento, autorizo o Instituto Biológico (IB-APTA), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a disponibilizar gratuitamente e sem ressarcimento dos direitos autorais, o presente trabalho acadêmico de minha autoria, no portal, biblioteca digital, catálogo eletrônico ou qualquer outra plataforma eletrônica do IB para fins de leitura, estudo, pesquisa e/ou impressão pela Internet desde que citada a fonte.

Assinatura: Flávio Martinuzzo Contento Data: 19.02.2021

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo**  
**Núcleo de Informação e Documentação – IB**

Conteúdo: Flávio Martinuzzo.

Mistura de fósforo de potássio com amoníaco visando o controle da antracnose do feijão. / Flávio Martinuzzo Contento. – São Paulo, 2021.

5<sup>a</sup> p.

doi: 10.31368/PGSAAA.2021.D.FC006

Dissertação (Mestrado). Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação

Área de concentração: Segurança Alimentar e Saúde no Agroecossistema.  
Linhas de pesquisa: Manejo Integrado de pragas e doenças em ambientes rurais e urbanos

Orientador: César Júnior Bueno

Versão do título para o inglês: Mixture of potassium phosphate with ammonia to control anthracnose in common bean

1. *Phaseolus vulgaris*. 2. *C. Endemulhanum*. 3. Leignins HCl. 4. Fósforo de potássio. I. Contento, Flávio Martinuzzo. II. Júnior Bueno, César. III. Instituto Biológico (São Paulo). IV. Título.

ISBN: 2021.006

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Flávio Martinuzzo Contento

Título: Mistura de fosfito de potássio com aminoácido visando o controle da antracnose do feijoeiro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Aprovada em: 28/06/2021

### Banca Examinadora

Prof. Dr. César Júnior Bueno

Instituição: Instituto Biológico



Julgamento: Aprovado

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Luís Garrigós Leite

Instituição: Instituto Biológico



Julgamento: Aprovado

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Ivan Herman Fischer  
APTA

Instituição: Pólo Regional Centro Oeste – Bauri /

Assinatura: 

Julgamento: Aprovado

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a meu orientador Dr. César Júnior Bueno (Instituto Biológico de São Paulo) pela confiança e por acreditar em minha capacidade. Agradeço também por todos os ensinamentos transmitidos durante o mestrado, e por toda paciência, apoio e dedicação ao me orientar.

Agradeço aos professores do Programa de Pós-Graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio por todos os ensinamentos.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação do Instituto Biológico de São Paulo pela oportunidade de realização do mestrado. Agradeço a Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela oportunidade da bolsa de mestrado e apoio financeiro obtido durante todo o desenvolvimento da pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Processo: 88882.444223/2019-01.

Agradeço aos membros da banca de Qualificação e Defesa de Mestrado pelas sugestões e correções para melhoria do trabalho.

Agradeço a toda minha família e amigos pelo apoio e dedicação que me forneceram nesses anos. Obrigada por estarem sempre ao meu lado e por me incentivarem a correr atrás dos meus sonhos.

## RESUMO

CONTENTO, Flávio. **MISTURA DE FOSFITO DE POTÁSSIO COM AMINOÁCIDO PARA O CONTROLE DA ANTRACNOSE DO FEIJOEIRO**. 2021. 50 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2021.

Dentre as doenças da cultura do feijoeiro, destaca-se a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*. O agromineral potássio é muito importante no metabolismo das plantas, além de ser relatado exercendo efeito desfavorável para doenças vegetais. O fosfito de potássio, uma mistura de fósforo e potássio, é um fertilizante muito usado na agricultura e ainda com ação fungicida. A L-Arginina HCl é um dos aminoácidos responsáveis pela síntese de compostos na regulação metabólica no meio vegetal e muito utilizada em farmácias de manipulação. A arginina é empregada como um fertilizante, e um estudo demonstra que ela atua na inibição da enzima lacase e evita maceração de tecidos por *Rhizoctonia solani*. O presente trabalho teve como objetivo testar em condições *in vitro* e *in vivo* se a mistura de fosfito de potássio com o aminoácido arginina inibe ou reduz os sintomas da antracnose no feijoeiro. Além disto, investigar se essa inibição ou redução deve-se a alterações das características morfoculturais do fungo *C. lindemuthianum* bem como verificar se a mistura atua também no desenvolvimento da planta. Para tanto foram necessários cinco ensaios. 1) Verificar a patogenicidade do isolado IAC 14.786 do fungo *C. lindemuthianum* raça 83 em folhas e vagens do feijoeiro comum; 2) Avaliar o efeito de diferentes concentrações de L-Arginina HCl incorporada em meio de cultura BDA na inibição do crescimento micelial do fitopatógeno; 3) Avaliar o efeito de L-Arginina HCl combinada com Fosfito de potássio incorporados em meio de cultura BDA na inibição do crescimento micelial do fitopatógeno; 4) Lâminas permanentes foram feitas com as colônias dos ensaios 2 e 3 para verificar alterações morfológicas no fungo; 5) Aplicação foliar de L-Arginina HCl misturada ou não com Fosfito de potássio em duas variedades de feijoeiro comum (suscetível e moderadamente resistente ao fungo) e verificar o efeito disto na severidade da doença e se causa fitotoxidez nas plantas. O isolado do fungo *C. lindemuthianum* foi patogênico em folhas e vagens autoclavadas de feijoeiro e demonstrou ser o causador dos sintomas. A concentração de 20 g de L Arginina HCl por litro de meio BDA foi a que melhor interferiu negativamente no crescimento micelial de *C. lindemuthianum*. Fosfito de potássio utilizado isolado inibiu completamente o crescimento micelial do fungo. As



concentrações de 15 e 20 g de L Arginina HCl e o tratamento com fosfito de potássio + L Arginina HCl alteraram morfoculturalmente o fungo (colônia branca, hifas alteradas e ausência de produção de conídios). Fosfito de potássio foi o tratamento que propiciou a menor severidade média da doença na folha verdadeira nas duas variedades de feijoeiro, bem como causou fitotoxidez nas plantas das duas variedades, destacando-se na variedade moderadamente resistente. Fosfito de potássio apresentou pH altamente ácido na calda e prejudicial para as plantas das variedades de feijoeiro. A L arginina HCl não trouxe acréscimo com o fosfito de potássio na redução do crescimento micelial do fungo, no controle da doença nas duas variedades de feijão, bem como também não foi a responsável por causar fitotoxidez nas plantas. A variedade JPA Ant é mais suscetível a antracnose do que a Alvorada.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, *C. lindemuthianum*, L-arginina HCl, fosfito de potássio.

#### ABSTRACT

Among the diseases of the bean crop, anthracnose stands out, due to the fungus caused by *Colletotrichum lindemuthianum*. Agromineral potassium is very important in plant metabolism, in addition to being reported to have an unfavorable effect for plant diseases. L-Arginine HCl is one of the amino acids responsible for the synthesis of compounds in the metabolic regulation in the plant environment. Arginine is used as a fertilizer, and a study demonstrates that it acts in the inhibition of the enzyme laccase and in the maceration of tissues by *Rhizoctonia solani*. The present work aimed to test in vitro and in vivo conditions whether the potassium phosphite enriched with the amino acid arginine inhibits or reduces the symptoms of anthracnose in common bean. In addition, investigate whether this inhibition or reduction will affect the morphocultural characteristics of the fungus *C. lindemuthianum* and its development in the plant. For this purpose, five tests were carried out. 1) CHECK the pathogenicity of the isolate IAC 14.786 of the fungus *C. lindemuthianum* race 83 in leaves and pods of common bean; 2) Evaluate the effect of different options of L-Arginine HCl incorporated in BDA culture medium on the mycelial growth of the phytopathogen; 3) Evaluate the effect of L-Arginine HCl combined with potassium phosphite incorporated in BDA culture medium on the mycelial growth of the phytopathogen; 4) Permanent slides were made with the colonies of tests 2 and 3 to verify morphological changes in the fungus; 5) Leaf application of L-Arginine HCl combined or not with potassium phosphite in two varieties of common bean (susceptible and moderately resistant to the fungus) and check the effect of this on the severity of the disease and if it causes phytotoxicity in the plants. The isolate of the fungus *C. lindemuthianum* was pathogenic in

leaves and pods autoclaved of common bean and alteration of the cause of the symptoms. The concentration of 20 g of L Arginine HCl per liter of BDA medium was the one that best interfered negatively on the mycelial growth of *C. lindemuthianum*. Potassium phosphite used alone and in combination with L Arginine HCL completely inhibited the mycelial growth of the fungus. The concentrations of 15 and 20 g of L Arginine HCl and treatment with potassium phosphite + L Arginine HCl morphoculturally altered the fungus (white colony, altered hyphae and absence of conidia production). Potassium phosphite and phosphite + arginine were the treatments that provided the lowest average severity of the disease in the true leaf in the two bean varieties. The phosphite potassium and phosphite + arginine treatments caused phytotoxicity in the plants of both varieties, with the last treatment standing out in the moderately resistant variety. Potassium phosphite and phosphite + arginine showed highly acidic pH in the syrup and harmful to plants of bean varieties. The JPA Ant variety is more susceptible to anthracnose than Alvorada.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, *C. lindemuthianum*, L-arginine HCl, potassium phosphite.

## Sumário

1) INTRODUÇÃO.....	1
2) JUSTIFICATIVAS .....	2
3) OBJETIVOS .....	2
4) REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	2
4.1) Cultura do feijoeiro no Brasil.....	2
4.2) Antracnose do feijoeiro comum.....	3
4.3) Sintomas.....	4
4.4) Controle .....	5
4.5) Controle Alternativo - Potássio .....	6
4.6) Arginina .....	8
5) MATERIAL E MÉTODOS .....	9
5.1) Isolado de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> .....	9
5.2) Obtenção do Fosfito de Potássio e da L Arginina HCl.....	10
5.3) Teste de patogenicidade - Folha .....	10
5.4) Teste de patogenicidade - Vagem .....	11
5.5) Teste de concentração da L Arginina HCl .....	12
5.6) Controle <i>in vitro</i> de <i>C. lindemuthianum</i> .....	13
5.7) Características morfoculturais de <i>C. lindemuthianum</i> .....	13
5.7) Controle <i>in vivo</i> de <i>C. lindemuthianum</i> .....	14
6) RESULTADOS .....	15
6.1) Teste de patogenicidade - Folhas.....	15
6.2) Teste de patogenicidade - Vagem .....	16
6.3) Teste de concentração da L Arginina HCl .....	18
6.4) Controle <i>in vitro</i> de <i>C. lindemuthianum</i> .....	21
6.5) Características morfoculturais de <i>C. lindemuthianum</i> .....	23
6.6) Controle <i>in vivo</i> de <i>C. lindemuthianum</i> .....	26
7) DISCUSSÃO .....	30
8) CONCLUSÕES.....	33
9) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

## 1) INTRODUÇÃO

No Brasil, a produção da cultura do feijão é voltada para o consumo interno e as importações são realizadas para suprir a diferença entre produção e consumo. A importação nos últimos anos variou de 150 a 300 mil toneladas por ano (MAPA, 2018). Em 2018, a produção foi de 2.973.932 toneladas (SIDRA-IBGE, 2019).

A maior parte da produção do feijão está localizada em cinco estados como Mato Grosso, Goiás, Bahia, Minas Gerais e Paraná, que somados são responsáveis por 67% da produção nacional (MAPA, 2018).

Atualmente, um dos principais fatores limitantes da produção do feijoeiro é a doença antracnose, causado pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*. Em todo o mundo, a doença afeta as cultivares suscetíveis, principalmente em locais que ocorrem as condições predisponentes como temperaturas moderadas e alta umidade relativa (Bianchini et al., 2005). No Brasil, essas condições e a doença ocorrem prevalentemente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Bahia.

A principal medida de controle da doença é a utilização de variedades resistentes. No entanto, a alta variabilidade do patógeno, expressa por um grande número de raças, dificulta a obtenção e a manutenção de variedades com resistência, e força os produtores a proteger suas lavouras através do emprego de fungicidas, algumas vezes de maneira indiscriminada. A preocupação com o meio ambiente, a presença de resíduos de agrotóxicos nos alimentos e a exigência cada vez maior do mercado consumidor de adquirir produtos saudáveis, obtidos a partir de tecnologias de baixo impacto ambiental, têm levado os pesquisadores a buscar medidas alternativas para o controle de doenças de plantas, tais como o emprego do controle biológico e da indução de resistência (DI PIERO e GARDA, 2018).

Segundo Bedendo (1995), o elemento mineral potássio exerce efeito desfavorável para as doenças nas plantas. O emprego de nutrição balanceada em potássio confere resistência à planta. Segundo ainda Bedendo (1995), o potássio, provavelmente, tem uma atuação direta, dificultando o estabelecimento e o desenvolvimento do patógeno na planta, além de atuar indiretamente, promovendo a cicatrização de ferimentos e dificultando a penetração do patógeno.

O fosfito de potássio é um composto derivado de ácido fosforoso e empregado na agricultura como um fertilizante. O fosfito tem aproximadamente 7% a mais de fósforo do que

o fosfato. Além disso, esse composto também pode atuar diretamente sobre fitopatógenos, inibindo o seu crescimento micelial e diminuindo ou eliminando a sua esporulação do patógeno (FENN & COFFEY, 1984; DIANESE & BLUM, 2010).

Bora et al. (2005) estudaram a ação do aminoácido arginina na atividade da enzima lacase e na maceração de tecidos da planta tremoço-bravo (*Lupinus angustifolius* L.) pelo fungo *Rhizoctonia solani*. Nesse estudo, constataram o papel da enzima lacase como fator de virulência para infecção da planta. Como resultado, observaram que a arginina inibiu completamente a atividade da lacase e diminuiu drasticamente a maceração das radículas na presença do fungo.

## **2) JUSTIFICATIVAS**

Considerando as seguintes relevâncias: 1) Cultivo e consumo expressivo da cultura do feijão no Brasil; 2) Importância da doença antracnose no feijoeiro e seus prejuízos; e 3) A importância do fosfite de potássio e do aminoácido arginina na diminuição de doença em planta. Com essas relevâncias, faz-se necessário investigar cientificamente o efeito tanto do fosfite de potássio quanto da arginina no patossistema feijão *versus* *C. lindemuthianum*.

## **3) OBJETIVOS**

O presente estudo tem como objetivos testar em condições *in vitro* e *in vivo* se a mistura do fosfite de potássio com o aminoácido arginina inibe ou reduz os sintomas da antracnose no feijoeiro. Além disto, investigar se essa inibição ou redução afetará as características morfoculturais do fungo *C. lindemuthianum*.

## **4) REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **4.1) Cultura do feijoeiro no Brasil**

No Brasil, a produção da cultura do feijão é voltada para o consumo interno e as importações são realizadas para suprir a diferença entre produção e consumo. Nos últimos

anos, a importação variou de 160 a 315 mil toneladas por ano (MAPA, 2021). A produção da cultura em 2020 foi de 2.997.695 toneladas (SIDRA-IBGE, 2021).

A produção do feijão está localizada em cinco estados: Mato Grosso, Goiás, Bahia, Minas Gerais e Paraná. As regiões do Nordeste, Sudeste e Sul foram as maiores produtoras da cultura em 2020 (MAPA, 2021).

No que se refere a semeadura há três períodos distintos, a saber: meses de setembro a novembro denominado de “período das águas”, entre janeiro a março chamado de “seca”, e o terceiro período no outono-inverno, que ocorre nos meses de maio a julho. Contudo, este último só pode ser realizado onde o inverno ocorre com temperaturas amenas, como por exemplo em São Paulo, Goiás, Espírito Santo e Minas Gerais. Em relação à época de “seca” é necessária a irrigação complementar da cultura para suprir o déficit hídrico neste período (EMBRAPA, 2003).

No Brasil, há preferência por tipos de grãos do feijoeiro, como os dos genótipos carioca e preto. Porém, existe diversas variedades que são cultivadas no país com grande importância comercial, desde o feijão branco, roxo e outros (CARBONELL et al. 1999).

Mesmo se destacando entre os principais produtores mundiais, a produtividade brasileira ainda é considerada baixa e não atende à demanda interna (CONAB, 2013). Essa baixa produtividade é atribuída a vários fatores, como a incidência de doenças e pragas, deficiências nutricionais e períodos de estiagem (SCHWARTZ e PASTOR-CORRALES, 1989; Conab, 2013). A ocorrência de enfermidades destaca-se entre os fatores mais importantes, sendo a antracnose causada pelo fungo *C. lindemuthianum* uma das doenças de maior importância na cultura.

#### **4.2) Antracnose do feijoeiro comum**

A antracnose do feijoeiro, causada pelo fungo *C. lindemuthianum* (SACC. & MAGN.), é uma doença grave e que afeta a parte aérea de cultivares suscetíveis em todo o mundo. A severidade da doença está atrelada a localidades com predominância de temperaturas amenas e alta umidade (WALKER, 1952; VIEIRA, 1967). Alta esporulação do patógeno em vagens se dá com temperaturas entre 14 e 18°C, sendo temperaturas inferiores a 14°C ou superiores a 25°C limitantes para o desenvolvimento do fungo (ZAUMEYER e THOMAS, 1957; PASTOR-CORRALES; TU, 1989; ABREU et al., 2008). Em relação a umidade relativa do ar é necessário um nível superior a 95% para o desenvolvimento da doença (WALKER, 1952; VIEIRA, 1967; GUZMÁN et al., 1979).

Este patógeno se dissemina em curtas e longas distâncias por meio da água, insetos, ventos, acessórios agrícolas e, principalmente, sementes infectadas, nas quais representam a maior fonte de inóculo do patógeno (DAMASCENO; SILVA et al., 2007).

O livre comércio de grãos no Brasil também tem um impacto significativo para a disseminação do patógeno, uma vez que sementes infectadas podem ser utilizadas em plantios futuros e distribuídas em outros estados (THOMAZELLA et al., 2002 e ALZATE-MARIN et al., 2003).

O patógeno da antracnose foi descrito em 1878 por Saccardo e Magnus como *Gloeosporium lindemuthianum* (ZAUMEYER e THOMAS, 1957). Uma década depois, em 1888, o patógeno foi reclassificado para o gênero *Colletotrichum* devido apresentar as seguintes estruturas: acérvulos, presença de setas e estruturas filamentosas produzidas entre os conidióforos (BARRUS, 1921). Pertencente à classe dos Deuteromicetos, ordem Melanconiales e família Melanconiaceae, e duas fases reprodutivas, sendo uma sexuada e outra assexuada (KIMATI, 1980; VALE e ZAMBOLIN, 1997). Fungos que apresentam os dois ciclos possuem uma maior variabilidade genética, devido as novas combinações de alelos que ocorrem, principalmente, no ciclo sexual (MCDONALD e LINDE, 2002).

O *C. lindemuthianum* possui ampla variabilidade e muitas raças fisiológicas (SARTORATO, 2002), capacitando o fungo a causar doença em vários cultivares. No período de 1994 a 2002, foram identificadas no Brasil 50 raças do patógeno. As raças 65, 73, 81 e 87 são as mais frequentes e estão largamente distribuídas em praticamente todos os estados do Brasil.

### 4.3) Sintomas

Os sintomas da antracnose do feijoeiro comum ocorrem na parte aérea das plantas e nas vagens (PARRELLA et al., 2008). Nestes locais surgem lesões de tamanho variável, arredondadas e com coloração escura. O centro das lesões é claro circundado por uma mancha cor de café avermelhado (CHAVES, 1980)

Na região abaxial e nas nervuras centrais e secundárias das folhas pode surgir uma necrose que posteriormente se torna uma mancha clorótica e de cor escura (KIMATI, 1980).

No caule e nos pecíolos ocorrem lesões alongadas e de coloração escura. Com o desenvolvimento surgem cancrios e podridão (ABRE, 2007). O caule enfraquece e fica incapaz de sustentar a copa da planta. (ZAMBOLIN e CHAVES, 1978).

Os sintomas nas sementes são facilmente identificados nas variedades com grãos de cor clara devido ao surgimento de lesões de coloração escura (ZAUMEYER e THOMAS, 1957).

#### 4.4) Controle

O tratamento de sementes com o uso de fungicidas é uma prática recomendável antes do plantio visando manejar a doença (CASTRO et al., 2008). Esse tipo de tratamento se diferencia da aplicação de químicos na parte aérea pela sua ação sistêmica em plantas jovens (BARROS et al., 2001).

A utilização de cultivares resistentes ao patógeno é o principal método de controle da doença adotado atualmente. No entanto, existe uma grande dificuldade para a manutenção das variedades resistentes devido ao fato do patógeno apresentar grande variabilidade genética, ou seja, pode aparecer uma raça resistente a variedade (BALARDIN e PASTOR CORRALES, 1991).

Em 1988, pesquisadores do CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) definiram um grupo de doze cultivares diferenciadores de feijão comum para ser utilizado internacionalmente na identificação de raças de *C. lindemuthianum* e facilitar assim o intercâmbio de informações e de germoplasma resistente (MESQUITA et al., 1998). PASTOR-CORRALES (1991) sugeriu a uniformização do conjunto diferenciador e a adoção do sistema binário, aumentando a eficiência do estudo da variabilidade do patógeno. A adoção deste procedimento padrão permite a comparação de dados de diferentes grupos de pesquisa do mundo todo. A maioria dos estudos conduzidos com populações de *C. lindemuthianum* tem envolvido a comparação de isolados monoconidiais de diferentes locais. A variabilidade em populações de uma única localidade ou até mesmo de uma única planta não tem sido investigada. Neste sentido, pesquisas envolvendo a caracterização da reação de germoplasma de feijão frente a raças do fungo vêm sendo feitas visando a determinação de novas fontes de resistência (SCHWARTZ et al., 1982; BALARDIN e PASTOR-CORRALES, 1990; PASTOR-CORRALES et al., 1995; CAMPA et al., 2003; DEL RIO et al., 2003).

O uso de agrotóxicos para a proteção de plantas contra fitopatógenos, apesar de trazer resultados positivos em curto prazo, traz desvantagens como onerar a produção, contaminar o solo e a água, causar problemas de saúde no homem, selecionar microorganismos resistentes e desequilibrar o meio ambiente (TALAMINI e STADNIK, 2004). Para o patossistema *C. lindemuthianum* e feijoeiro, os principais princípios ativos de fungicidas, extrato de plantas e antagonistas de controle biológico autorizados e recomendados pelo MAPA



(2020) são: Acibenzolar-S-metílico, Azoxistrobina, Azoxistrobina+Difenoconazol, Azoxistrobina+Flutriafol, Azoxistrobina+Tetraconazo, antagonista *Bacillus pumilus* linhagem QST 2808, Captana, Carbendazim, Carbendazim+Flutriafol, Carbendazim+Tiram, Carboxina+Tiram, Clorotalonil, Clorotalonil+Oxicloreto de cobre, Clorotalonil+Tiofanato-metílico, Cresoxim-metílico+Tebuconazol, Difenoconazol, Macozebe+Oxicloreto de cobre, Óxido cuproso, Famoxadona+Mancozebe, Fipronil+Piraclostrobina+Tiofanato-metílico, Fluazinam, Fluazinal+Tiofanato-metílico, Fludioxonil, Fludioxonil+Metalaxil-M, Fludioxonil+Metalaxil-M+Tabendazol, Fludioxonil+Metalaxil-M+Tabendazol+Tametoxam, Fluxapiróxade+Piraclostrobina, Hidróxido de fentina, Maconzebe, Mancozebe+Tiofanato-metílico, extrato de *Melaleuca alternifolia*, Metconazol+piraclostrobina, Metiram+Piraclostrobina, Picoxistrobina, Piraclostrobina, Piraclostrobina+Tiofanato-metílico, Propiconazol, Propiconazol+Tebuconazol, Protiocozazol, Protiocozazol+Trifloxistrobina, extrato de *Reynoutria sachalinensis*, Tebuconazol, Tebuconazol+Trifloxistrobina e Tiofanato-metílico (SARTORATO e RAVA, 1994).

#### 4.5) Controle Alternativo – Fosfito de Potássio

Desde a antiguidade que se conhece, empiricamente, a importância do potássio no metabolismo das plantas. Há referências da utilização, como fertilizante, cinzas resultantes da queima de árvores, material contendo uma concentração expressiva de potássio, desde o século III A.C. Anterior à descoberta e exploração dos depósitos salinos, a produção consistia em sua totalidade na obtenção de  $K_2CO_3$ , denominado à época de pot ash, produzido a partir de fontes naturais, entre outras, cinzas de madeira e salmouras provenientes de sal marinho (CANADIAN POTASH PRODUCER, 2001).

Hoje sabe-se que o potássio é um nutriente mineral essencial para as plantas e animais. Ele é o terceiro mais abundante em nossos corpos, excedido apenas pelo cálcio e fósforo. Mais de 85% do potássio no corpo humano é encontrado em órgãos essenciais, como nos músculos, no sangue e no trato digestivo. Nem animais e plantas podem sobreviver sem um suprimento adequado deste nutriente (POTAFOS/NUTRIFATOS, 1996).

Carbonato de potássio é um composto químico de fórmula  $K_2CO_3$ , sendo um sal branco, solúvel em água (insolúvel em álcool), forma uma solução fortemente alcalina e muito utilizado na pulverização foliar como corretivo para plantas carentes em potássio.

As funções do potássio na agricultura são muito importantes e dentre elas podemos destacar as seguintes:

- (i) Ativa a catálise biológica – enzimas e promove o metabolismo do N e a síntese de proteínas, nas plantas verdes;
- (ii) Tem funções reguladoras da osmose – absorção e perda de água;
- (iii) Promove a síntese do açúcar e a sua ida para os tecidos de armazenagem.

Segundo Bedendo (1995), o potássio exerce efeito desfavorável para as doenças. O emprego de nutrição balanceada em potássio confere resistência à planta. Segundo ainda Bedendo (1995), o potássio, provavelmente, tem uma atuação direta, dificultando o estabelecimento e o desenvolvimento do patógeno na planta, além de atuar indiretamente, promovendo a cicatrização de ferimentos e dificultando a penetração do patógeno.

O Fósforo é um dos principais nutrientes para as plantas, é um componente do DNA e faz parte do nucleotídeo NTP gerados durante a respiração e fotossíntese. Isto o faz de um componente de grande importância na floração, frutificação e desenvolvimento das raízes em plantas. Quando estes seres carecem do fósforo, sua folhas adquirem uma cor verde-azulada, seguidas de amarelecimento (ABEL et al. 2002; MALAVOLTA et al., 2002).

O fosfito de potássio é um fertilizante empregado na agricultura e derivado de ácido fosforoso. O fosfito tem aproximadamente 7% a mais de fósforo do que o fosfato. Além disso, esse composto também pode atuar diretamente sobre fitopatógenos, inibindo o seu crescimento micelial e diminuindo ou eliminando a sua esporulação do patógeno (FENN & COFFEY, 1984; DIANESE & BLUM, 2010).

A diferença entre o fosfato e o fosfito se dá pelo qual o fosfito possui um átomo de hidrogênio no lugar de um átomo de oxigênio (McDONALD et al., 2001).

O fosfito de potássio tem excelentes atividades fungicidas e também atua diretamente sobre os fungos, além de ativar os mecanismos de defesas das plantas para induzir a produção de fitoalexinas (RATJEN; GERENDÁS, 2009).

Este composto também é rapidamente absorvido pelas raízes, folhas e casca de tronco, implicando em uma menor necessidade de gasto de energia para absorção do nutriente pela planta. Pode ser usado também como agente quelante que favorece a absorção de K, Ca, B, Zn e outros nutrientes. Também pode ser misturado com outros produtos. É utilizado em algumas formulações para reduzir o pH da solução, melhorando assim a eficiência de alguns herbicidas (LOVATT; MIKKELSEN, 2006).

Os fosfitos não possuem efeitos nutricionais para aumentar a produtividade das culturas,

porém são comercializados como fertilizantes que contêm fosforo.

Outros efeitos da aplicação de fosfito mencionados na literatura inclui o equilíbrio nutricional das plantas, melhor amadurecimento e qualidade do frutos e melhor qualidade pós-colheita (BRACKMANN et al., 2004; LOBATO et al., 2008; MOOR et al., 2009; NOJOSA et al., 2005).

#### 4.6) Arginina

A arginina é um aminoácido semi-essencial ou condicionalmente essencial em seres humanos. Ela pode ser sintetizada endogenamente numa quantidade suficiente para atender as necessidades, não sendo necessária em dieta de adultos saudáveis. Apresenta importância na manutenção da resposta imunológica e na cicatrização de feridas. A arginina é a principal transportadora de nitrogênio em humanos e animais e faz parte da síntese de moléculas importantes, como agmatina, creatina, ornitina, óxido nítrico, poliaminas, prolina e dentre outras (BELITZ et al. 2009; BERNARDINO; SOUZA, 2010).

Arginina apresenta radical com o grupo amino e é hidrófila, ou seja, tem afinidade com a água (BELITZ et al. 2009). Dentre os 20 aminoácidos comuns existentes, a arginina é o aminoácido mais alcalino (BERNARDINO; SOUZA, 2010).

Como um componente farmacêutico, a L-Arginina HCl é amplamente utilizada sozinha ou em combinação com outros aminoácidos como um agente revigorante na recuperação da fadiga, no tratamento da hiperamonemia, para a melhoria da disfunção hepática, como um agente de diagnóstico para o sistema endócrino, e para a elaboração integral de aminoácidos. Na nutrição clínica é usada como um componente para nutrição enteral e parenteral. Na indústria alimentícia, este aminoácido é utilizado na nutrição esportiva, em bebidas e alimentos para a saúde com o objetivo de suplementar a nutrição, também utilizado como condimento e flavorizante (BERNARDINO; SOUZA, 2010).

Sua aplicação na indústria cosmética se dá em cremes para a pele, produtos para os cabelos, tais como xampus e condicionadores que fazem uso de sua propriedade hidratante, amaciador e protetor dos fios (BERNARDINO; SOUZA, 2010).

Na área veterinária, L-Arginina HCl é usada como um fortificante nutricional para a alimentação de animais de grande porte e animais domésticos, utilizado na produção de enzimas e usado como regulador de pH (BERNARDINO; SOUZA, 2010).

A L-Arginina HCl é um dos aminoácidos responsáveis, no meio vegetal, pela síntese de compostos na regulação metabólica, com efeito na atenuação do estresse abiótico. Este aminoácido também possui indícios de causar efeitos benéficos em moléculas oriundas do seu metabolismo, ocasionada pelo aumento da atividade de enzimas antioxidantes (TOBA, 2005). Na indústria agrícola, a arginina é utilizada como um fertilizante (ÖHLUND; NÄSHOLM, 2001).

Migotto et al. (2017) verificaram em um estudo que dois isolados de *Cylindrocladium spathiphylli* e três isolados alterados do mesmo fungo obtidos por alta temperatura produziram *in vitro* maior quantidade da enzima lacase. Em teste de patogenicidade com os isolados em plantas de espatifilo e procurando correlacionar com a quantidade de enzimas extracelulares produzidas em condições *in vitro*, Migotto et al. (2017) constataram que o isolado que produziu maior quantidade da enzima lacase matou mais precocemente as plantas. Assim, os autores concluíram que há forte evidência do papel da lacase no patossistema espatifilo versus *C. spathiphylli*.

Bora et al. (2005) estudaram a ação do aminoácido arginina tanto na inativação da produção da enzima lacase quanto na não maceração de tecidos da planta tremoço-bravo (*Lupinus angustifolius* L.) pelo fungo *Rhizoctonia solani*. A arginina inibiu a maceração das radículas pelo fungo *R. solani*, além do fato de inibir também *in vitro* a atividade da enzima extracelular lacase.

Conclui-se que a L arginina HCL não é tóxica para o ser humano, para os animais e para o meio ambiente, podendo ainda atuar na inibição da enzima lacase produzida por fungos fitopatogênicos e, conseqüentemente, bloquear a patogênese desde que esteja ligada a essa enzima.

## 5) MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1) Isolado de *Colletotrichum lindemuthianum*

O isolado utilizado nos estudos foi o IAC 14.786 do fungo *C. Lindemuthianum* raça 83 foi obtido do Centro de Melhoramento de Feijoeiros do Instituto Agrônomo de Campinas – Fazenda Santa Elisa.

## 5.2) Obtenção do Fosfito de Potássio e da L Arginina HCl

O Fosfito de potássio foi doado pela empresa Stoller - Phytogard®. A L arginina HCl foi adquirida na farmácia de manipulação Modherma.

## 5.3) Teste de patogenicidade - Folha

Para verificar a patogenicidade do isolado de *C. lindemuthianum* na cultura, foram obtidas folhas de feijoeiro comum da variedade Rosinha do Centro de Melhoramento de Feijoeiros do Instituto Agrônomo de Campinas – Fazenda Santa Elisa.

O inóculo do patógeno foi produzido a partir de tubos de ensaio contendo vagens de feijão esterilizadas e imersas em meio ágar-água (10 g ágar em 1 litro de água). Tudo foi autoclavado por 30 minutos a 120°C. Um disco de meio batata dextrose ágar (BDA) contendo micélio e conídio do patógeno foi colocado nas vagens para multiplicar o patógeno. Após 14 dias de crescimento do patógeno nas vagens incubadas em estufa tipo BOD, a 22°C, no escuro, foi adicionado 20 mL de água destilada autoclavada em cada tubo de ensaio seguido de agitação para propiciar o desprendimento dos conídios da colônia. A suspensão de conídios obtida foi filtrada em uma camada de gaze previamente esterilizada, deixando passar somente água e os conídios. A concentração de conídios de *C. lindemuthianum* foi quantificada com auxílio do hemacitômetro de Neubauer e ajustada para  $1 \times 10^5$  conídios/mL.

As folhas foram desinfestadas dentro de câmara de fluxo de laminar seguindo as seguintes etapas na ordem descrita:

- Imersão por 1 minuto em solução de hipoclorito de sódio na concentração de 2%;
- Imersão em água destilada autoclavada por 1 minuto;
- Secagem da folha em papel de filtro esterilizado.

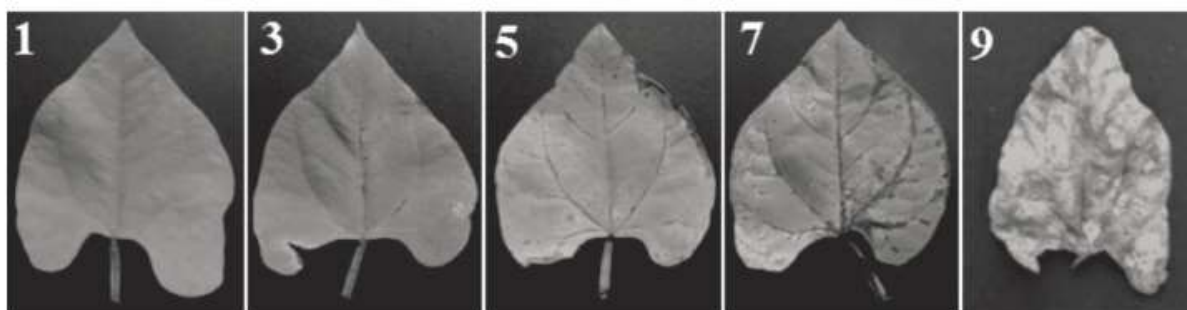
Após a secagem das folhas, foi pulverizado a suspensão de conídios na face abaxial virada para cima. As folhas foram colocadas em placas de Petri de vidro contendo papel de filtro e duas lâminas de vidro sob o papel. Todo o conjunto foi previamente autoclavado por 30 minutos a 121°C. O papel de filtro foi umedecido com 2 mL de água destilada autoclavada visando criar um ambiente de câmara úmida. Foram feitas 10 repetições (placa de Petri contendo uma folha inoculada com o patógeno) e 10 repetições para o controle (placa de Petri contendo uma folha sem receber o patógeno). As placas foram incubadas em estufa tipo BOD a 22°C, no escuro.

A avaliação da severidade da doença foi realizada com auxílio da escala de notas (Figura 1) de Pastor-Corrales (1992), com 10 e 21 dias de incubação.

O percentual da severidade da doença causada pelo fungo na vagem (X), foi transformado em arcoseno  $\sqrt{x} \times 100$  e depois analisado estatisticamente aplicando-se o teste de Tukey com 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi o Sisvar® da UFLA-MG.

O experimento foi repetido integralmente.

**Figura 1.** Escala de notas com a severidade da antracnose em folhas primárias do feijoeiro comum (Pastor-Corrales, 1992).



#### 5.4) Teste de patogenicidade - Vagem

O inóculo do fungo foi produzido no meio BDA incubado em estufa tipo BOD, a 22°C, no escuro, por 21 dias.

Foram utilizados tubos de ensaio contendo vagens autoclavadas e não autoclavadas e parcialmente imersas em meio com ágar-água (10 g ágar em 1 litro de água). O tubo contendo o meio foi previamente autoclavado por 30 minutos a 121°C. Um disco de BDA (0,6 cm de diâmetro) contendo micélio do fungo *C. lindemuthianum* foi colocado na superfície de cada vagem (autoclavada e não autoclavada) presente no tubo de ensaio. Houveram tubos contendo vagens autoclavadas e não autoclavadas sem a presença do fungo. Todos os tubos foram incubados em estufa tipo BOD a 22°C, no escuro, por até 21 dias. Foram estabelecidas 10 repetições para as quatro situações diferentes.

A avaliação da severidade da doença na vagem foi realizada com 14 e 21 dias de incubação por meio da mensuração do percentual da vagem contendo a presença do fungo (micélio) com esporulação ao longo da extensão (cor escura).

O experimento foi repetido integralmente.

Tanto no teste de patogenicidade com as folhas quanto em vagem, após a avaliação retirou-se um fragmento da região de transição (sadio e doente) de cada repetição para reisolar o agente causal. Os fragmentos foram desinfestados (30 s em solução de álcool a 70%; 1 minuto em solução de hipoclorito de sódio a 1,5%; lavagens em água destilada autoclavada e secagem em papel de filtro estéril), cortados em pedaços menores de 5 mm e plaqueados no meio BDA. Foram estabelecidas quatro placas para cada repetição, sendo cada repetição contendo quatro pedaços plaqueados. A incidência positiva por placa consistiu em aparecer uma colônia de *C. lindemuthianum* a partir do pedaço plaqueado no meio, independentemente da quantidade plaqueada.

### 5.5) Teste de concentração da L Arginina HCl

O inóculo do fungo foi produzido no meio de batata dextrose ágar (BDA) incubado em estufa tipo BOD, a 22°C, no escuro, por 21 dias.

Este ensaio consistiu em preparar as concentrações desejadas da arginina incorporando-a em meio de cultura batata dextrose ágar (BDA). Primeiramente foi preparado e autoclavado o meio de cultura batata dextrose ágar (BDA). Em temperatura fundente, foi incorporado as diferentes concentrações (0,5; 1; 5; 10; 15 e 20 g/L) de L Arginina HCl no meio de cultura. Para o tratamento controle foram utilizadas placas de Petri de 9 cm contendo apenas o meio de BDA. Essa operação foi feita em câmara de fluxo laminar.

Após o preparo de todos os 7 tratamentos (testemunha; 0,5; 1; 5; 10; 15 e 20 g de arginina por L de meio BDA), um disco de BDA contendo micélio + conídios de *C. lindemuthianum* (5 mm de diâmetro) foi depositado no centro das placas de Petri com os tratamentos. As placas foram mantidas em condições controladas em estufa tipo BOD (22°C e fotoperíodo de 12 horas). Foram estabelecidas 10 repetições por tratamento, sendo a repetição uma placa de Petri com o tratamento mais o fungo.

As avaliações foram realizadas com auxílio de uma régua milimetrada, no qual foram feitas medições diárias dos diâmetros perpendiculares da colônia do fungo até o fechamento da placa de um dos tratamentos.

Os dados do crescimento micelial dos tratamentos com arginina foram comparados individualmente ao tratamento controle, calculando-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial (MENTEN et al., 1976).

O experimento foi repetido integralmente.

### 5.6) Ação da Arginina *in vitro* de *C. lindemuthianum*

O inóculo do fungo foi produzido no meio de batata dextrose ágar (BDA) incubado em estufa tipo BOD, a 22°C, no escuro, por 21 dias.

Este ensaio consistiu em incorporar a concentração de L arginina HCl com melhor eficácia do experimento anterior (Item 5.5) mais a concentração do fosfito de potássio (Phytogard®) em meio de cultura batata dextrose ágar (BDA).

Primeiramente foi preparado e autoclavado o meio de cultura batata dextrose ágar (BDA). Em temperatura fundente, foi incorporado arginina (20 g por litro de meio), fosfito de potássio (Phytogard®) (10 mL do produto por litro de meio), a interação arginina + fosfito de potássio no meio de cultura e o meio sem nada incorporado.

Após o preparo dos tratamentos, um disco de BDA contendo micélio + conídios de *C. lindemuthianum* (5 mm de diâmetro) foi depositado no centro das placas de Petri com os tratamentos. As placas foram mantidas em condições controladas em estufa tipo BOD (22°C e fotoperíodo de 12 horas). Foram realizadas 10 repetições por tratamento, sendo a repetição uma placa de Petri com o tratamento mais o fungo.

As avaliações foram realizadas com auxílio de uma régua milimetrada, no qual foram feitas medições diárias dos diâmetros perpendiculares da colônia do fungo até o fechamento da placa de um dos tratamentos.

Os dados do crescimento micelial dos tratamentos com arginina, fosfito de potássio e arginina + fosfito foram comparados individualmente ao tratamento controle, calculando-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial (MENTEN et. al., 1976).

Os dados do crescimento micelial dos tratamentos com arginina, fosfito de potássio e arginina + fosfito de potássio foram comparados individualmente ao tratamento controle. Esses dados (X), foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$  e depois analisado estatisticamente aplicando-se o teste de Tukey com 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi o Sisvar® da UFLA-MG.

O experimento foi repetido integralmente.

### 5.7) Características morfoculturais de *C. lindemuthianum*



Após a realização dos ensaios dos itens 5.5 e 5.6, um fragmento da colônia do fungo nos meios foi retirado com auxílio de uma agulha fitopatológica e esse fragmento foi depositado em uma gota de água destilada depositada sob uma lâmina de vidro. Em seguida, uma lamínula foi colocada e depois tudo foi selado com esmalte incolor para tornar a lâmina permanente. As lâminas foram visualizadas em microscópio ótico Nissan Eclipse modelo E 200.

As placas das colônias dos ensaios dos itens 5.5 e 5.6 também foram visualizadas quanto as suas características culturais.

Todas as características observadas foram:

- Coloração da colônia no meio de cultura (branca ou negra);
- Produção ou não de conídios (não houve quantificação);
- Integridade das hifas (normais ou alteradas).

### **5.7) Controle *in vivo* de *C. lindemuthianum***

Foram plantadas em vermiculita autoclavada duas variedades de feijoeiro, uma suscetível (JPA ANT) e uma moderadamente resistente (ALVORADA) ao patógeno, em casa de vegetação no Centro de Melhoramento de Feijoeiros do Instituto Agrônomo de Campinas – Fazenda Santa Elisa.

O inóculo do patógeno foi produzido a partir de tubos de ensaio contendo vagens de feijão esterilizadas e imersas em meio ágar-água (10 g ágar em 1 litro de água). Tudo foi autoclavado por 30 minutos a 120°C. Um disco de meio batata dextrose ágar (BDA) contendo micélio e conídio do patógeno foi colocado nas vagens para multiplicar o patógeno. Após 14 dias de crescimento do patógeno nas vagens incubadas em estufa tipo BOD, a 22°C, no escuro, foi adicionado 20 mL de água destilada autoclavada em cada tubo de ensaio seguido de agitação para propiciar o desprendimento dos conídios da colônia. A suspensão de conídios obtida foi filtrada em uma camada de gaze previamente esterilizada, deixando passar somente água e os conídios. A concentração de conídios de *C. lindemuthianum* foi quantificada com auxílio do hemacitômetro de Neubauer e ajustada para  $3 \times 10^6$  conídios/mL (Pastor-Corrales, 1991).

Com 12 dias de crescimento das plantas de feijoeiro das duas variedades, foi pulverizado em ambos os lados das folhas, com borrifador mecânico, quatro tratamentos:

- Água destilada (controle);
- Arginina na concentração de 20 g/L;

- Fosfito de potássio (Phytogard®) na concentração recomendada pelo fabricante (10 ml/L);
- A interação arginina 20 g/L + fosfito de potássio (Phytogard®) 10 ml/L.

Após a aplicação dos tratamentos, as plantas foram aclimatadas em um aquário com a umidade relativa do ar em 80% e regulado para a temperatura de 22°C. Após dois dias e com a folha verdadeira bem desenvolvida foi pulverizado em toda a planta a concentração de conídios do fungo.

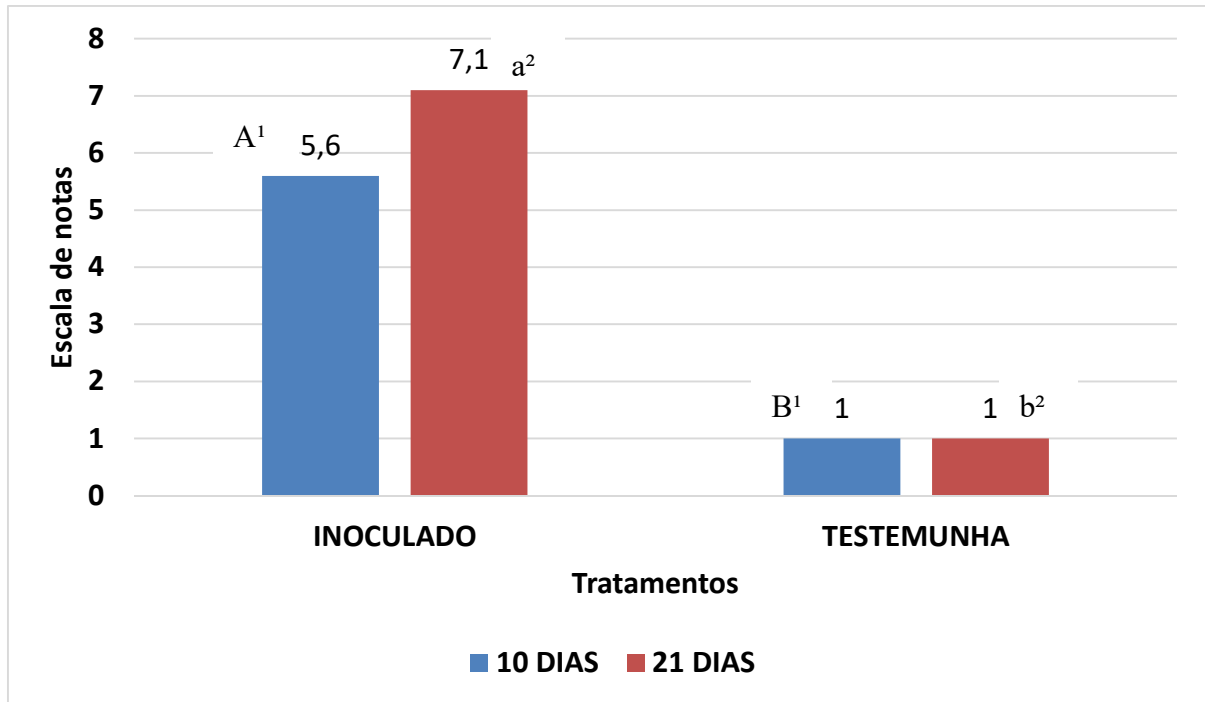
Foram estabelecidas 4 repetições por variedade e tratamento, sendo a repetição uma planta com o tratamento mais inoculação do fungo.

A avaliação da severidade da doença foi realizada com auxílio da escala de notas de Pastor-Corrales (1992) (Figura 1), com 8 dias de incubação das plantas, observando os sintomas da doença e sua gravidade, no lado inferior das folhas verdadeiras.

## **6) RESULTADOS**

### **6.1) Teste de patogenicidade - Folhas**

Após 10 dias da inoculação do fungo, constatou-se que a média da severidade da doença nas folhas inoculadas foi de 5,6 e o controle 1,0 (sem doença). Essas médias diferiram entre si significativamente. Com 21 dias de incubação, a severidade da doença aumentou em relação aos 10 dias. A média da severidade da doença nas folhas inoculadas foi de 7,1 e o controle 1,0 (sem doença). Novamente, essas médias diferiram significativamente entre si (Figura 1).



**Figura 1.** Severidade da antracnose em folha primária de feijoeiro comum da variedade Rosinha inoculada ou não com o isolado IAC 14.786 do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* raça 83.

Escala de notas (Pastor-Corrales, 1992): nota 1= folha sadia e sem lesões no limbo foliar e nas nervuras, até nota 9 = folha morta

<sup>1</sup>Letra maiúscula igual implica nenhuma diferença entre os tratamentos (folha inoculada e testemunha) durante 10 dias, segundo o teste de Tukey com 5% de significância.

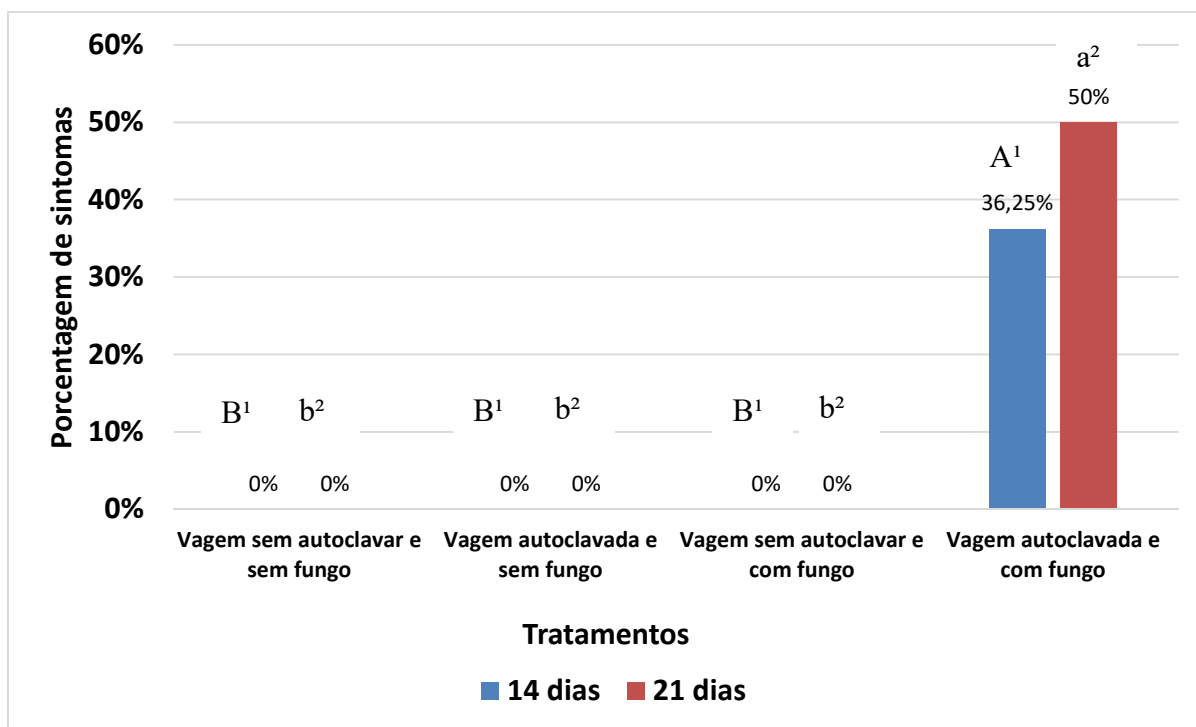
<sup>2</sup>Letra minúscula igual implica nenhuma diferença entre os tratamentos (folha inoculada e testemunha) durante 21 dias, segundo o teste de Tukey com 5% de significância.

Escala de notas (Pastor-Corrales, 1992): nota 1= folha sadia e sem lesões no limbo foliar e nas nervuras) até nota 9= folha morta.

## 6.2) Teste de patogenicidade - Vagem

Com 14 dias de incubação, a média da severidade da doença no tratamento vagem autoclavada e inoculada foi de 36,25%. Nos demais tratamentos não houve doença. Sendo assim, o tratamento com vagem autoclavada e inoculada diferenciou-se dos demais. Essa situação foi a mesma com 21 dias de incubação, sendo que a média da severidade da doença no tratamento vagem autoclavada e inoculada aumentou e ficou com 50% (Figura 2).

Vale salientar que no tratamento no qual a vagem foi inoculada sem a autoclavagem não foi possível constatar o aparecimento de sintomas devido ao grande número de contaminantes.



**Figura 2.** Severidade (%) da antracnose em vagens de feijoeiro comum da variedade Rosinha autoclavada e não autoclavada inoculada ou não com o isolado IAC 14.786 do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* raça 83.

O percentual de sintoma causado por *Colletotrichum lindemuthianum* na vagem foi transformado em arcoseno  $\sqrt{x}100$ .

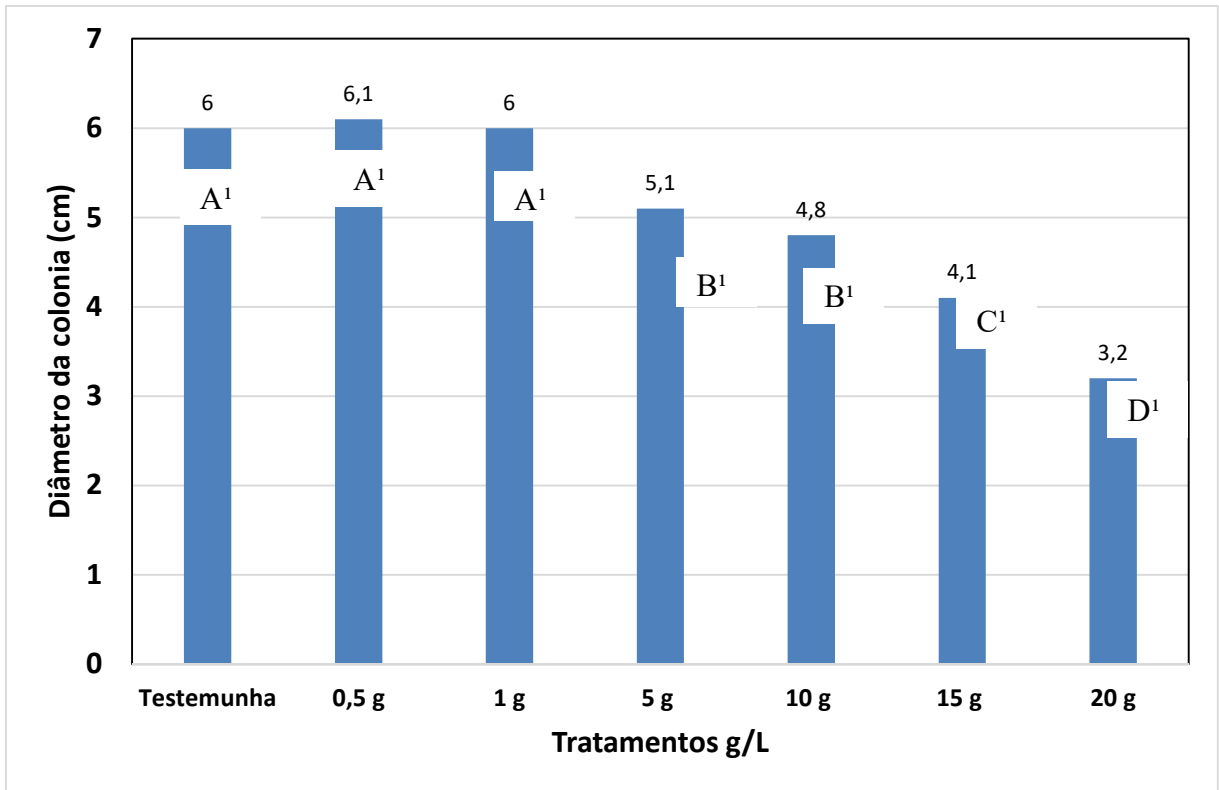
<sup>1</sup>Letra maiúscula igual não difere entre si, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade. Comparações entre os tratamentos com 14 dias; <sup>2</sup> Letra minúscula igual não difere entre si, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade. Comparações entre os tratamentos com 21 dias.

Severidade da doença: 0% = vagem sadia até 100%= vagem com 100% de lesão e com crescimento micelial e esporulação do fungo (cor preta) ao longo da extensão da vagem.

Nos dois testes de patogenicidade realizado, o isolado de *C. lindemuthianum* foi 100% reisolado, confirmando ser o agente causal dos sintomas tanto na folha quanto na vagem.

### **6.3) Teste de concentração da L Arginina HCl**

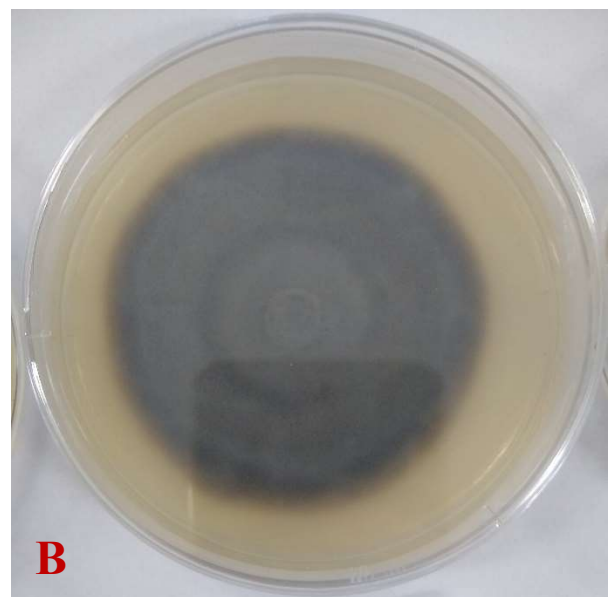
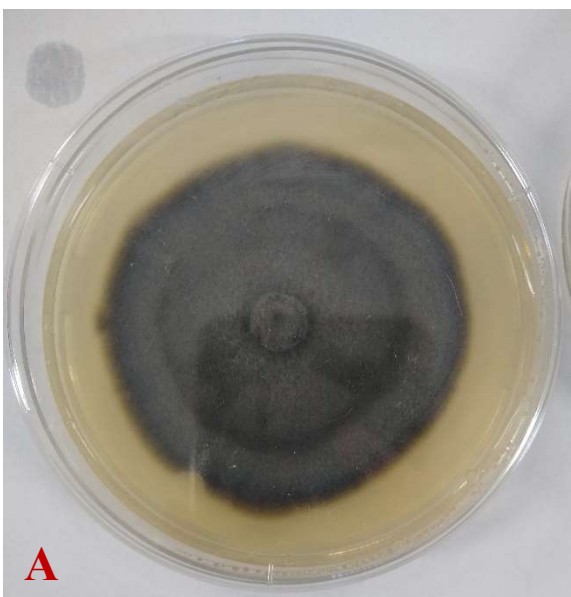
As concentrações de arginina incorporadas no meio de cultura BDA interferiram negativamente na média do diâmetro da colônia do fungo e, também, apresentaram diferenças entre si. A média do diâmetro da colônia do fungo não diferiu entre si nos tratamentos controle e arginina nas concentrações de 0,5 e 1,0 g por litro de meio. Também não se constatou diferença no diâmetro da colônia do fungo nos tratamentos contendo arginina nas concentrações de 5 e 10 g por litro de meio. Já os tratamentos contendo arginina nas concentrações de 15 e 20 g por litro de meio foram os que causaram os menores diâmetro da colônia do fungo e esses tratamentos diferiram entre si, com destaque para o tratamento com 20 g de arginina por litro de meio, o melhor deles na questão de inibir o crescimento do fungo (Figura 3 e Figura 4).

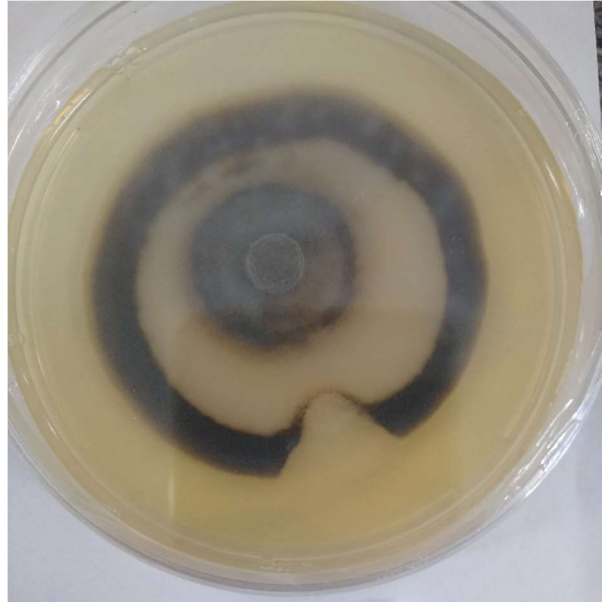
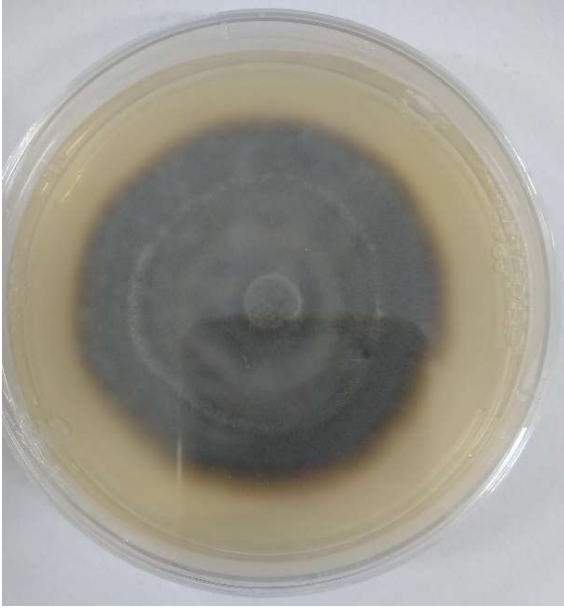


**Figura 3.** Diâmetro da colônia do isolado IAC 14.786 do fungo *Colletotrichum Lindemuthianum* raça 83 em meio de cultura BDA enriquecido ou não com diferentes concentrações de L Arginina HCl.

O diâmetro da colônia do fungo de cada tratamento (X) foi transformado em  $\sqrt{x} + 0,5$ .

<sup>1</sup>Letra maiúscula igual implica nenhuma diferença entre os tratamentos, segundo o teste de Tukey com 5% de significância.





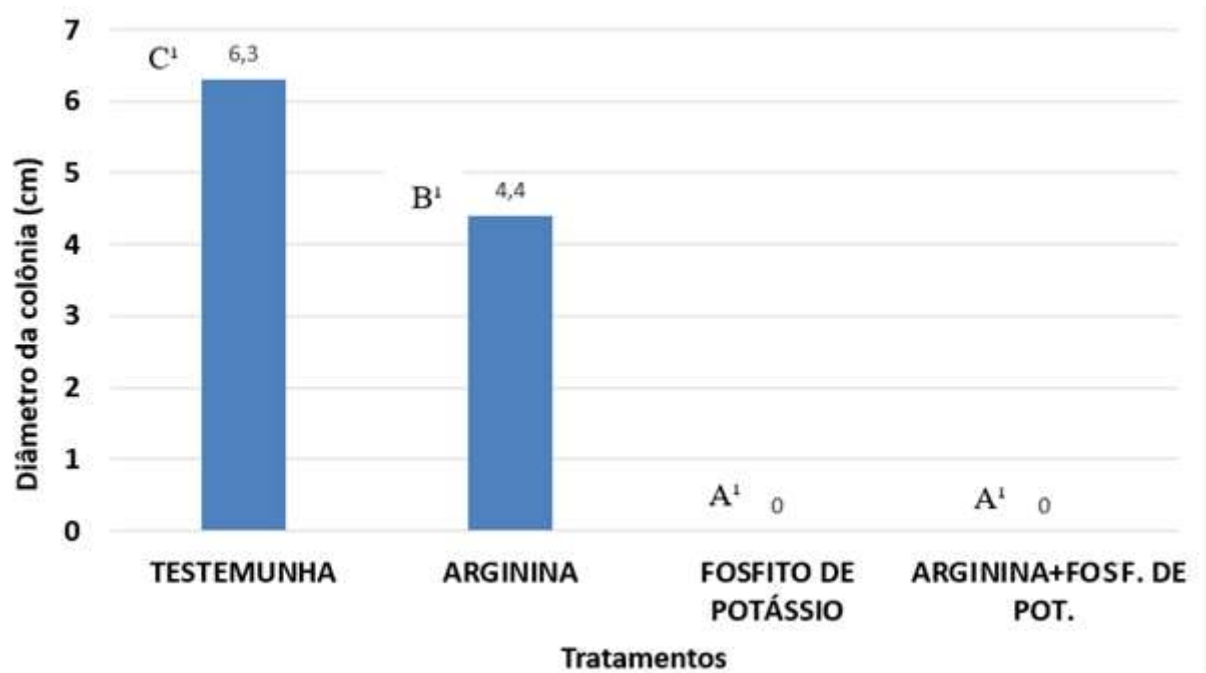


**Figura 4.** Crescimento micelial do isolado IAC 14.786 do fungo *C. Lindemuthianum* raça 83 em meio de cultura BDA enriquecido com diferentes concentrações de L Arginina HCl. **A.** Testemunha **B.** Concentração de 0,5g/L **C.** Concentração de 1 g/L **D.** Concentração de 5g/L **E.** Concentração de 10g/L **F.** Concentração de 15g/L **G.** Concentração de 20g/L.

#### 6.4) Controle *in vitro* de *C. lindemuthianum*

Os tratamentos com fosfito de potássio na concentração de 10mL/L isolado e com mistura de arginina na concentração de 20g/L no meio de cultura BDA inibiram completamente o crescimento micelial do fungo *C. lindemuthianum*. Vale ressaltar que a L Arginina HCL não contribuiu com a redução do crescimento da colônia do fungo com o produto fosfito de potássio. Isso se deve ao fato do tratamento contendo apenas L Arginina HCL apenas reduzir significativamente o crescimento micelial do fungo (média de 4,4 cm) em comparação ao controle (média de 6,3 cm) (Figura 5 e Figura 6).

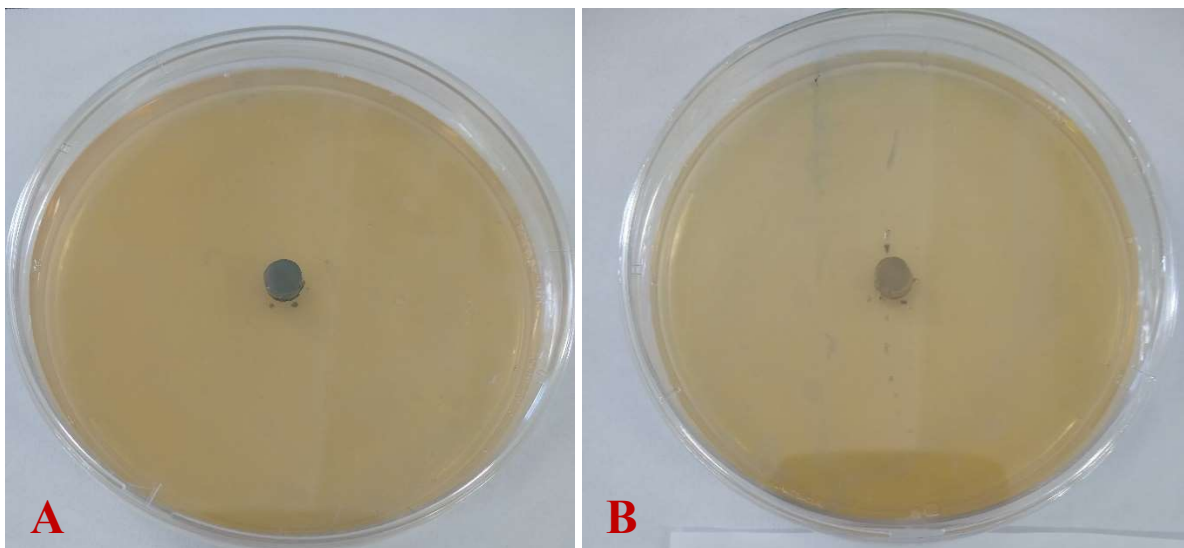


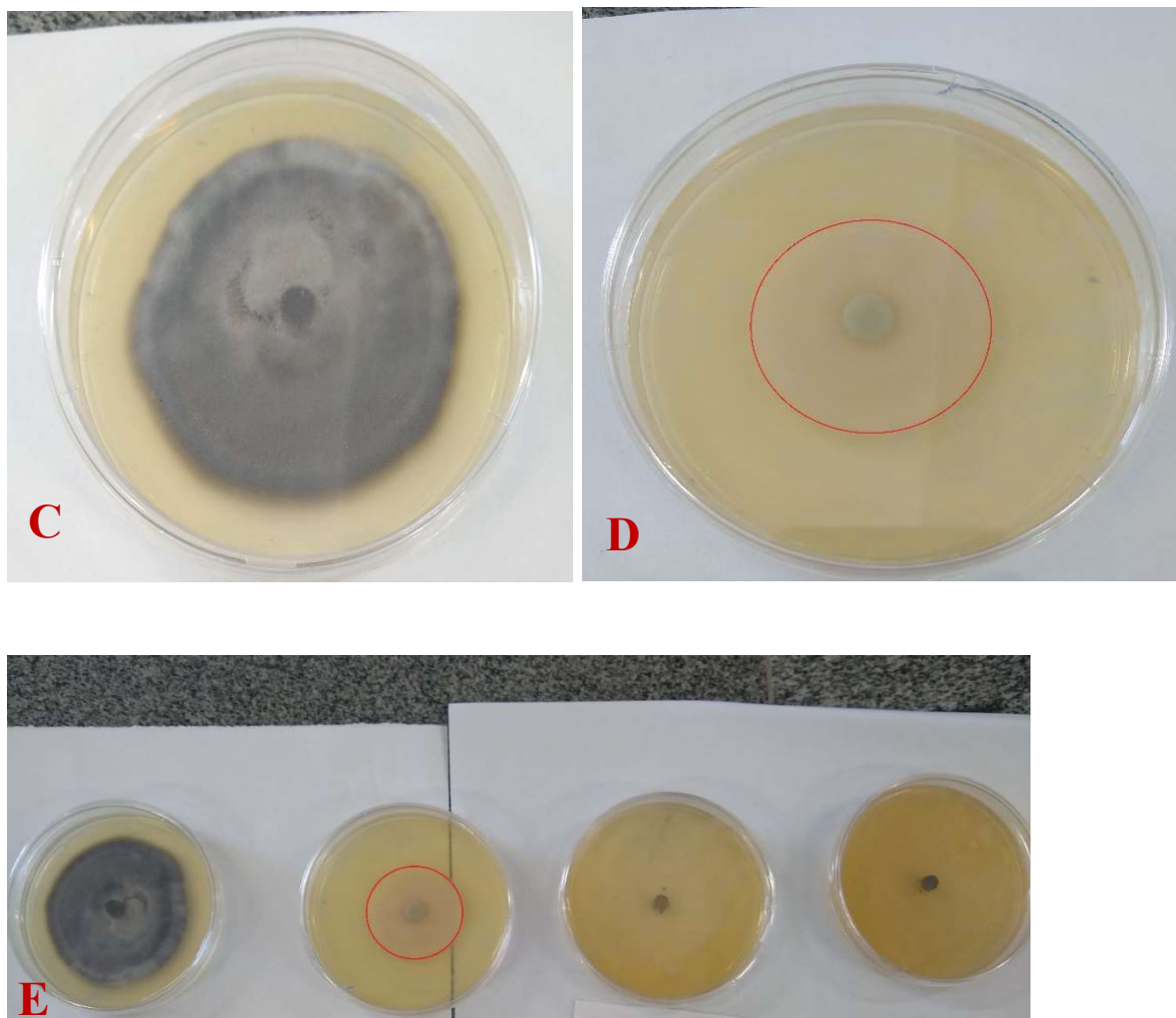


**Figura 5.** Diâmetro da colônia do isolado IAC 14.786 do fungo *C. Lindemuthianum* raça 83 em meio de cultura BDA enriquecido ou não com L Arginina HCl, Fosfíto de potássio e L Arginina HCl + Fosfíto de potássio.

O diâmetro da colônia do fungo de cada tratamento (X) foi transformado em  $\sqrt{x} + 0,5$ .

<sup>1</sup>Letra maiúscula igual implica em nenhuma diferença entre os tratamentos, segundo o teste de Tukey com 5% de significância.





**Figura 6.** Crescimento micelial do isolado IAC 14.786 do fungo *C. Lindemuthianum* raça 83 em meio de cultura BDA enriquecido com L Arginina HCl e fosfito de potássio. **A.** L Arginina HCl 20g/L + Fosfito de potássio **B.** Fosfito de potássio **C.** Testemunha **D.** L Arginina HCl 20g/L. **E.** Comparativo entre os tratamentos, Testemunha, Arginina HCl 20g/L, Fosfito de potássio e L Arginina HCl 20g/L + Fosfito de potássio.

## 6.5) Características morfo-culturais de *C. lindemuthianum*

### 6.5.1 Ensaio 5.5

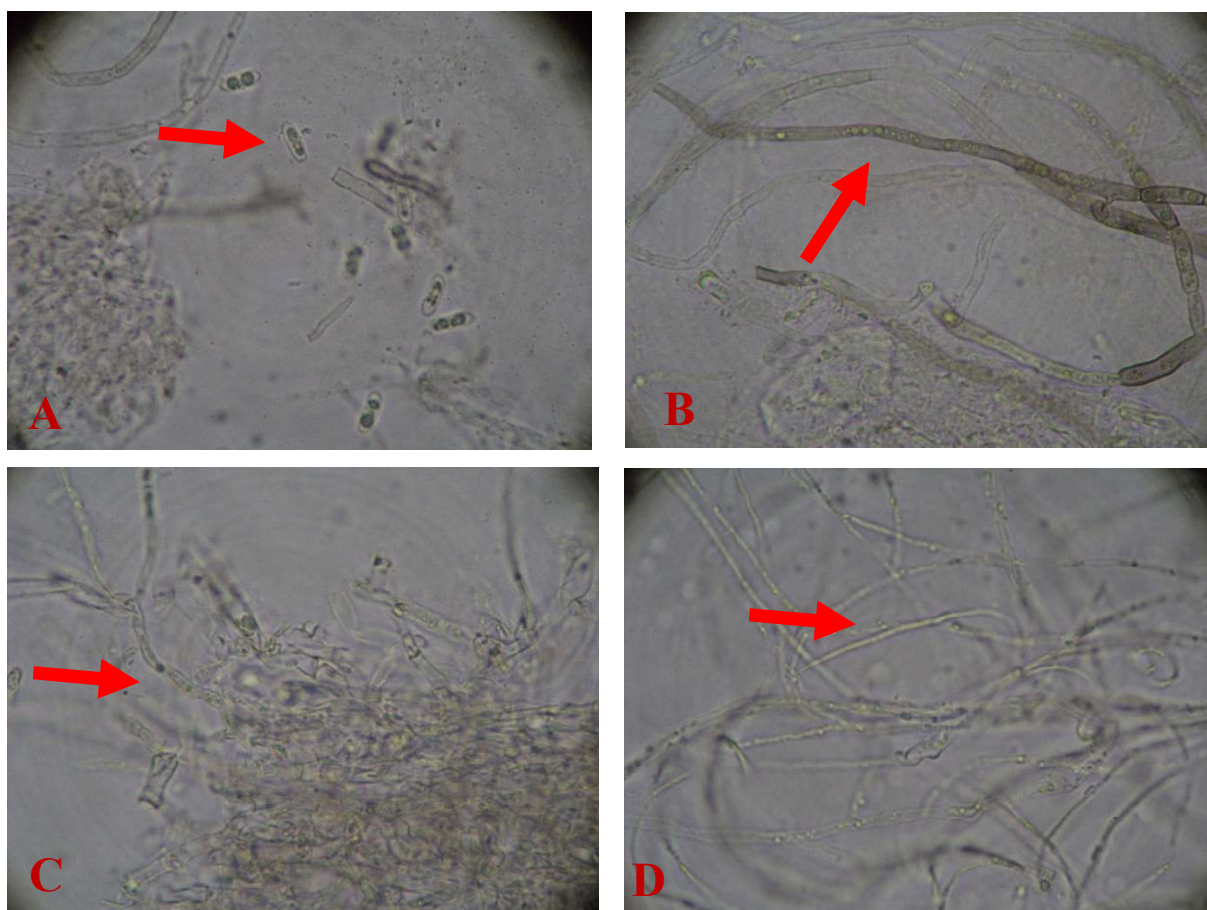
Tratamento controle (Figura 7-A e B e Figura 8-D): 70% das colônias do fungo no meio apresentaram cor preta; as hifas demonstraram-se estar normais e detectou-se produção de conídios.

Tratamentos L-Arginina HCl nas concentrações de 0,5, 1,0 e 5,0 g/L (Figura 4-B, 4-C e

4-D): 60% das colônias do fungo no meio foram de cor preta; as hifas apresentarem-se normais e detectou-se produção de conídios.

Tratamento com L Arginina HCl na concentração de 10 g/L (Figura 4-E): 65% das colônias do fungo no meio foram de cor preta; as hifas apresentaram-se alteradas e não se detectou produção de conídios.

Tratamento com L Arginina HCl nas concentrações de 15 e 20 g/L (Figura 4-F e 4G):  $\geq 60\%$  das colônias do fungo no meio apresentaram-se de cor branca; as hifas estavam alteradas e não se detectou produção de conídios.



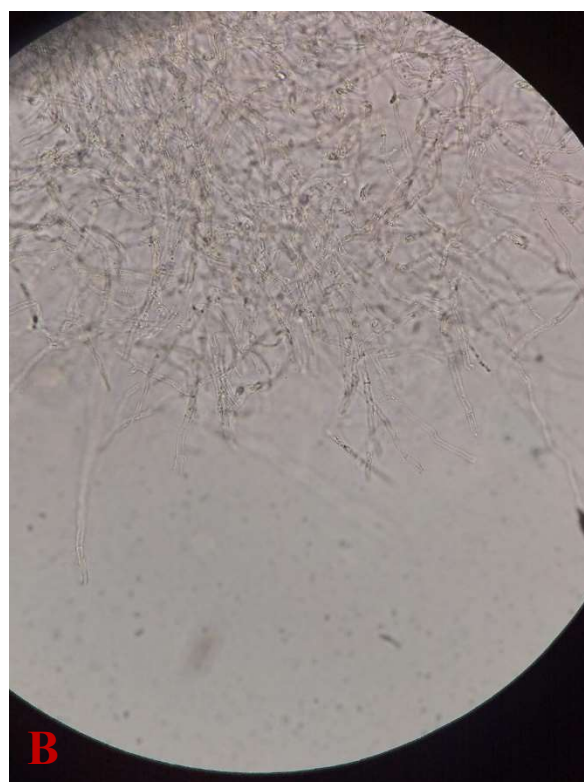
**Figura 7.** Microscopia do isolado IAC 14.786 do fungo *C. Lindemuthianum* raça 83 mantido em meio de cultura BDA enriquecido com L Arginina HCl. **A.** Testemunha aumento de 400x. Produção de conídios. **B.** Testemunha aumento de 400x. Hifas normais. **C.** Arginina HCl 10g/L aumento de 100x. Hifas alteradas e ausência de conídios. **D.** L Arginina HCl 15g/L aumento de 400x. Hifas alteradas e ausência de conídios.

### 6.5.2 Ensaio 5.6

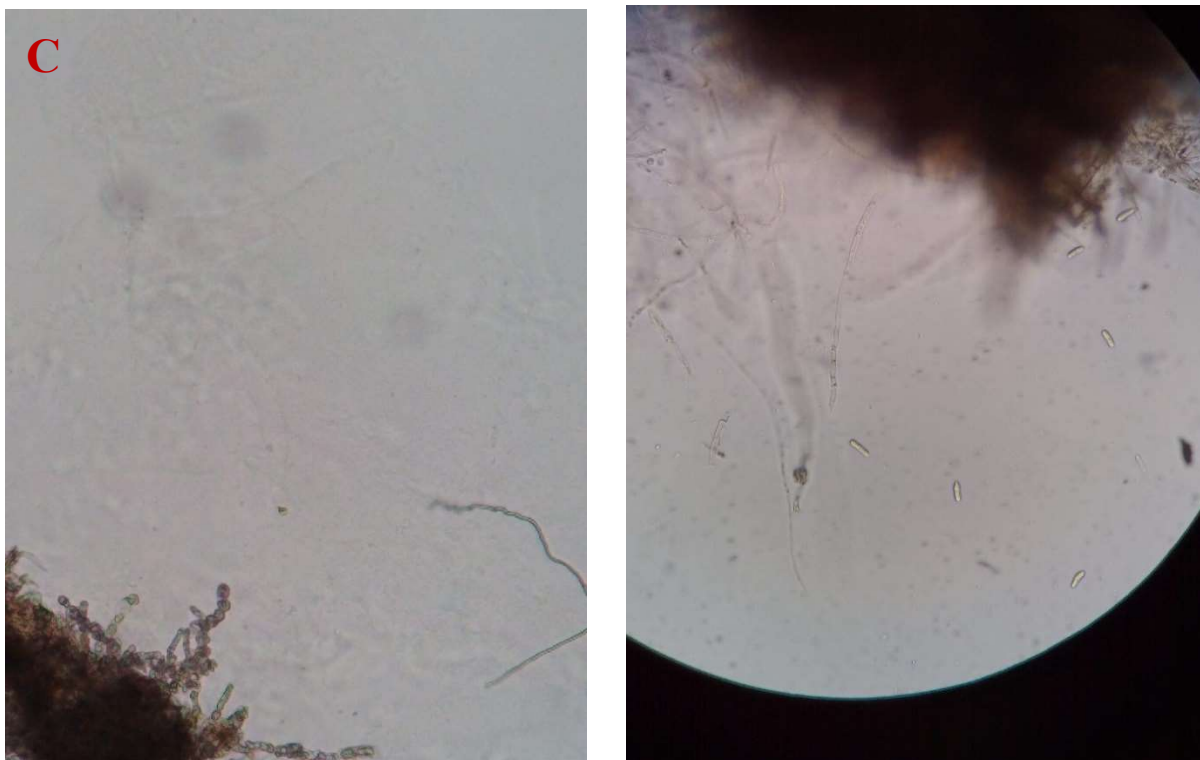
Tratamento com L-Arginina HCl 20g/L + Fosfito de potássio 10mL/L (Figura 5-A): a maioria das colônias do fungo no meio foi de cor branca; as hifas apresentaram-se alteradas, e não se detectou produção de conídios.

Tratamento com Fosfito de potássio 10mL/L (Figura 5-C): a maioria das colônias do fungo no meio foi de cor preta, mas as hifas apresentaram-se alteradas e ausência total de produção de conídios.

Tratamento controle (Figura 5-D): a maioria das colônias do fungo no meio apresentou-se de cor preta; as hifas estavam normais e detectou-se produção de conídios.







**Figura 8.** Microscopia do isolado IAC 14.786 do fungo *C. Lindemuthianum* raça 83 mantido em meio de cultura BDA enriquecido com L Arginina HCl e fosfito de potássio. **A.** L Arginina HCl 20g/L + Fosfito de potássio aumento de 100x **B.** L Arginina HCl 20g/L aumento de 400x **C.** Fosfito de potássio aumento de 100x **D.** Testemunha aumento de 400x.

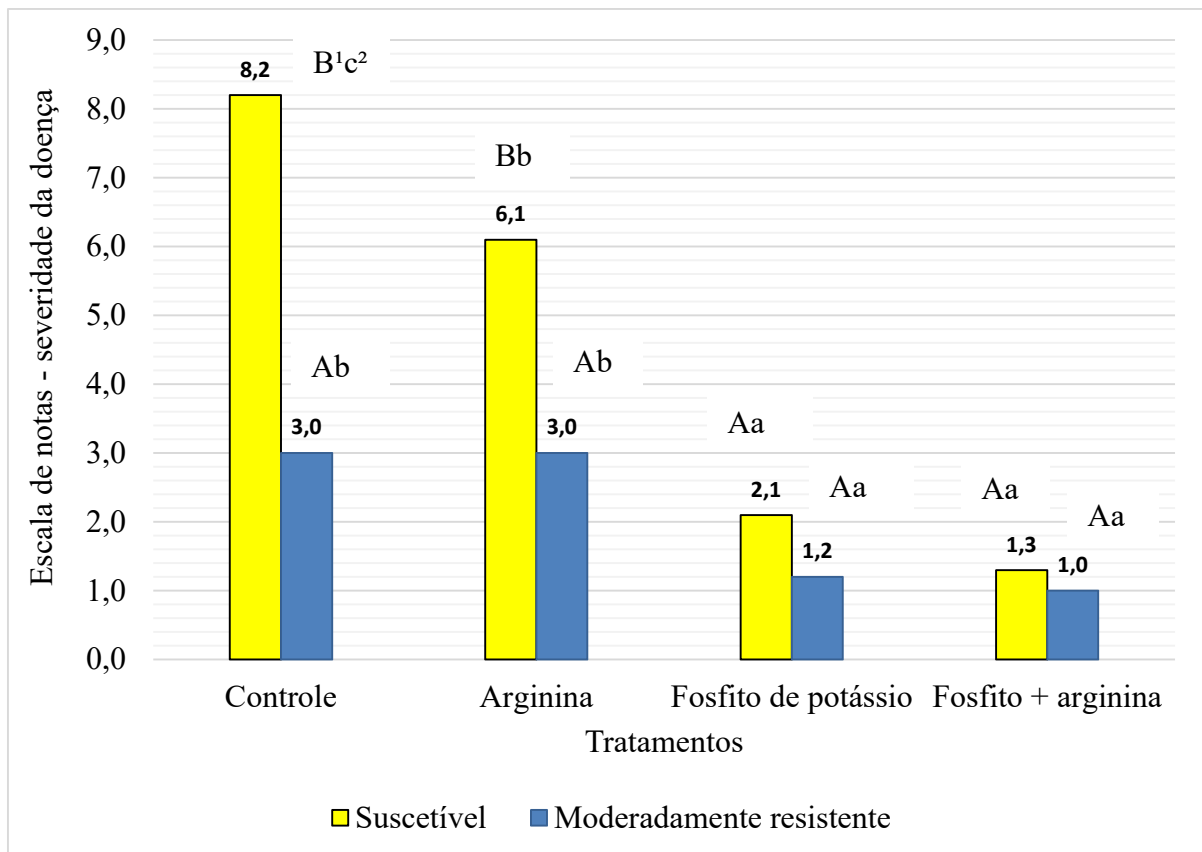
#### 6.6) Controle *in vivo* de *C. lindemuthianum*

Analisando a variedade suscetível, observou-se que os tratamentos fosfito de potássio e fosfito + arginina não diferiram entre si e foram os que apresentaram a menor severidade média da doença na folha verdadeira. Com isso, constata-se que o efeito maior foi do fosfito de potássio e não da arginina. No entanto, vale ressaltar que apesar de não haver diferença entre os tratamentos, o acréscimo da arginina implicou em ausência total da doença. O tratamento controle foi o que se diferenciou dos demais tratamentos, apresentando o maior índice de severidade média da doença. Em uma situação intermediária e ainda com alta severidade média da doença vem o tratamento somente com arginina (Figura 9).

Quanto a variedade moderadamente resistente, os tratamentos fosfito de potássio e fosfito + arginina não diferiram entre si e ambos não apresentaram na média sinais da doença na folha verdadeira. Isso reforça o efeito somente do fosfito de potássio e não da arginina. Os

tratamentos controle e arginina não diferiram entre si e ambos apresentaram baixa severidade média da doença e ambos tratamentos diferiram dos demais (Figura 9).

Comparando as variedades, tanto no tratamento controle, quanto na arginina, observou-se diferença entre as variedades, sempre a moderadamente resistente apresentando menor severidade da doença. Já os tratamentos fosfito de potássio e fosfito + arginina não apresentaram diferenças entre as variedades e esses tratamentos tanto na variedade suscetível quanto na moderadamente resistente propiciaram na média ausência de doença na folha verdadeira (Figura 9).

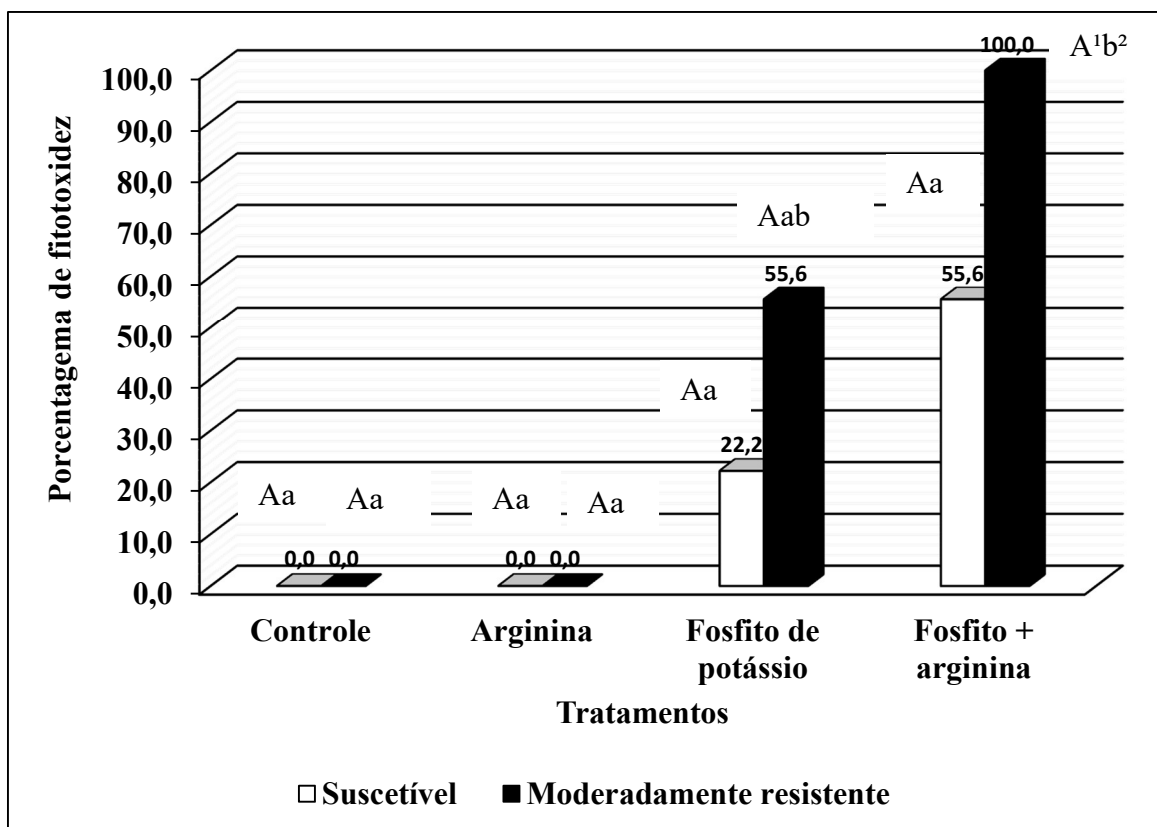


**Figura 9.** Severidade média da doença causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* raça 83 de feijoeiro comum nas folhas verdadeiras de plantas das variedades suscetível (JPA ANT) e moderadamente resistente (ALVORADA), pulverizadas preventivamente com Arginina, Fosfíto de potássio e Fosfíto + arginina.

Escala de notas (Pastor-Corrales, 1992): nota 1= folha sadia e sem lesões no limbo foliar e nas nervuras, até nota 9 = folha morta

<sup>1</sup>Letra maiúscula igual não difere as variedades fixando o tratamento, segundo o teste de Tukey com 5% de significância; <sup>2</sup> Letra minúscula igual não difere entre os tratamentos controle, arginina, Fosfíto de potássio e Fosfíto + arginina fixando a variedade, segundo o teste de Tukey com 5% de significância.

Analisando a variedade suscetível em relação a fitotoxidez, observou-se que os tratamentos não diferiram entre si. Apesar de não haver diferenças, os tratamentos fosfíto de potássio e fosfíto + arginina foram os únicos que apresentaram fitotoxidez, mesmo sendo baixa (22,2% e 55,6% respectivamente) (Figura 10). A fitotoxidez presente na folha constou-se de necroses escuras nas bordas e em alguns pontos escuros no limbo foliar.



**Figura 10.** Porcentagem média dos sintomas de fitotoxidez ocorridas nas plantas das variedades suscetível (JPA ANT) e moderadamente resistente (ALVORADA) com a aplicação preventiva de Arginina, Fosfito de potássio e Fosfito + arginina.

O percentual de sintoma causado por *Colletotrichum lindemuthianum* nas plantas foi transformado em arcoseno  $\sqrt{x}100$ .

<sup>1</sup>Letra maiúscula igual significa que não há diferença entre os cultivares fixando o tratamento, segundo o teste de Mann-Whitney com  $p < 0.05$ ; <sup>2</sup> Letra minúscula igual significa que não há diferença entre os tratamentos fixando o cultivar, segundo o teste de Kruskal-Wallis complementado com o teste de múltiplas comparações de Dunn com  $p < 0.05$ .

Quanto a variedade moderadamente resistente, os tratamentos controle e arginina não apresentaram fitotoxidez e não diferiram entre si. Os tratamentos fosfito de potássio e fosfito de potássio + arginina apresentaram alta porcentagem de sintomas de fitotoxidez e não diferiram entre si. O tratamento fosfito + arginina apresentou 100% de fitotoxidez nas plantas e foi o único que diferiu do controle e somente arginina (Figura 10).

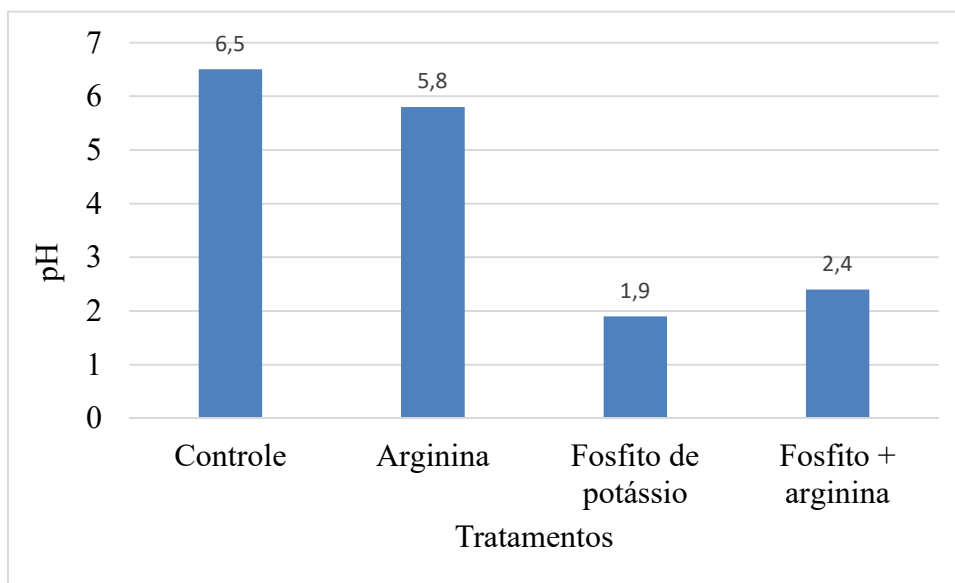
Fixando o tratamento, não se observou nenhuma diferença entre as variedades quanto ao sintoma de fitotoxidez, apesar de numericamente a variedade moderadamente resistente expressar mais fitotoxidez do que a suscetível, principalmente nos tratamentos fosfito de



potássio e fosfito + arginina (Figura 10).

A explicação para a fitotoxidez nas folhas das plantas está no pH da calda. O tratamento fosfito de potássio apresentou o pH mais ácido (1,9) seguido de fosfito + arginina (2,4), enquanto que o controle e a arginina já apresentaram pH mais próximo do neutro, com valores de 6,5 e 5,8, respectivamente (Figura 11).

Um fato constatado foi que a arginina não contribuiu com a fitotoxidez e não alterou o pH da calda na mistura com fosfito de potássio. Essa afirmação deve-se ao fato do tratamento somente com arginina não ter causado fitotoxidez e não ter pH ácido e sim próximo do neutro (Figuras 10 e 11).



**Figura 11.** Valores de pH da calda contendo os produtos Arginina, Fosfito de potássio e arginina + Fosfito de potássio aplicados de maneira preventiva nas plantas das variedades suscetível (JPA ANT) e moderadamente resistente (ALVORADA).

## 7) DISCUSSÃO

No presente estudo, constatou-se que o aminoácido L-Arginina HCl inibiu gradativamente o crescimento micelial do fungo *C. lindemuthianum*, a medida que aumentava

a concentração do produto incorporada no meio de cultura. Esse controle de fitopatógenos pela ação do aminoácido já foi observado em outros como o de Zheng et al. (2011), que relataram que concentrações de 0.5, 1 e 5 mM de L-Arginina HCl causaram ação fungitóxica, inibindo o crescimento micelial e a germinação de conídios do fungo *Botrytis cinerea*.

Foi observado no corrente estudo que a concentração de 20 g de L Arginina HCl por litro de meio não causou efeito fungicida e sim apenas diminuiu o crescimento micelial de *C. lindemuthianum*. Em um estudo de Migotto et al. (2017) também concluíram que a concentração de 20 g de L-Arginina HCl em um litro de meio causou efeito fungicida e inibiu o crescimento micelial de isolados de *Cylindrocladium spathiphylli*, após os mesmos ficarem expostos ao produto por 30 dias.

O fosfito de potássio utilizado isolado e em combinação com o aminoácido L Arginina HCL inibiram completamente o crescimento micelial do fungo *C. lindemuthianum*. Segundo um trabalho de Sonego et al. (2003), fosfito de potássio apresentou efeito na redução da incidência e da severidade do míldio da videira, causado pelo fungo *Plasmopara viticola*.

No presente estudo, as concentrações de 10, 15 e 20 g de L Arginina HCl no meio de cultura BDA apenas diminuíram o crescimento micelial mas impediram a esporulação do fungo. Em um estudo de Paranagama et al. (2003), óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) demonstrou ser fungistático e fungicida para *Aspergillus flavus*, dependendo da dose utilizada. Também dependendo da dose, o óleo inibiu o crescimento micelial e a esporulação do fungo.

No presente estudo, hifas do fungo *C. lindemuthianum*, além de redução no seu crescimento micelial, sofreram alterações quando expostas nos tratamentos com L Arginina HCL nas concentrações de 10, 15 e 20 g e Fosfito de Potássio utilizado isolado e em mistura com L Arginina HCl. As hifas de *C. lindemuthianum* mostraram-se alteradas e fragmentadas em comparação com o tratamento controle. Em um estudo de Khan & Zhihui (2010), exsudatos de raiz de alho no meio de cultura BDA causaram crescimento reduzido do fitopatógeno *Phytophthora capsici* e suas estruturas morfológicas foram modificadas. Quando observadas em microscópio eletrônico, as hifas de *P. capsici* mostraram-se colapsadas, fragmentadas, com menor diâmetro e em menor quantidade quando comparadas com as colônias controle.

No presente estudo, L Arginina HCl nas concentrações de 15 e 20 g/L e fosfito de potássio + L Arginina HCl nas concentrações de 10 mL/L + 20 g/L alteraram a cor da colônia de *C. lindemuthianum* no meio BDA e impediram a produção de conídios do fungo. Em um estudo de Pereira et al. (2011) verificou-se a inibição do crescimento e alterações morfológicas

de *Trichophyton rubrum*, causador de micose no homem e em animais, induzidas por óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor. De acordo com os resultados da pesquisa, todas as concentrações testadas do óleo essencial de *C. winterianus* conseguiram inibir fortemente o desenvolvimento micelial do fungo. As principais alterações morfológicas nas cepas fúngicas observadas à microscopia de luz incluem perda de conidiação, alterações na forma e pigmentação das hifas. Na presença do óleo, as colônias apresentaram de cor creme e ligeiramente mais escuras que o controle, ausência de produção de pigmento no reverso e com dobras evidentes (PEREIRA et al., 2011).

Em trabalho realizado por Spolti et al. (2015) foi constatado que o fosfito de potássio apresentou ação fungiotóxica sobre *Cryptosporiopsis perennans*. Foram realizados experimentos pré-colheita e pós-colheita utilizando misturas de fosfito de potássio com o fungicida Captan® para o controle da doença Podridão Olho de Boi causada por *C. perennans*. Foi constatado que a mistura controlou mais os sintomas na pré-colheita e ainda foi superior a utilização apenas do fungicida. Na pós-colheita, a mistura reduziu em 65% a incidência da doença. No presente estudo e diferentemente dos resultados de Spolti et al. (2015), o fosfito de potássio apresentou ação fungicida sobre o fungo *C. lindemuthianum*, quando aplicado preventivamente.

No corrente estudo, constatou-se ação preventiva do fosfito de potássio e fosfito + arginina no controle da antracnose, principalmente observando a variedade JPA ANT de feijoeiro comum, que é suscetível ao fungo *C. lindemuthianum*. Vale salientar que a maior ação foi do fosfito de potássio e não da arginina. Essa ação do fosfito sobre a antracnose do feijoeiro já foi observada em outros estudos. Segundo Nozaki et al. (2016), o uso de fosfitos em combinação com fungicidas na cultura do feijoeiro pode reduzir a incidência e a severidade da antracnose, além de poder causar indução da resistência da planta à doença, preservando assim o potencial produtivo da cultura.

Efeitos do fosfito de potássio no desenvolvimento inicial do feijão, pimentão e soja foi estudado por Medeiros et al. (2015). Os resultados de três experimentos mostraram diferença significativa em relação a fitotoxidez nas folhas que foram tratadas com rega *versus* aplicação foliar. Foi notado 100% da área das folhas do feijoeiro queimadas, quando utilizado doses de fosfito de 1,5 mL/L e 2 mL/L com aplicação foliar e ausência de fitotoxidez nas plantas regadas com o produto. No presente estudo, as plantas com aplicação foliar de fosfito de potássio a 10 mL/L e fosfito de potássio+arginina nas concentrações de 10 mL/L + 20 g/L apresentaram um

alto índice de fitotoxidez. Vale ressaltar que a fitotoxidez foi causada pelo fosfito de potássio e não por arginina, uma vez que o pH da arginina ficou próximo de neutro.

Um estudo realizado por Fischer et al. (2021) mostrou que plantas de pepino tratadas com fosfitos de Mn, Zn e Cu causaram efeitos fisiológicos positivos, como aumento da assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, condutância estomática e concentração interna de CO<sub>2</sub> diminuindo assim o estresse causado as plantas pelo patógeno *Corynespora cassiicola*. Neste trabalho é citado que o pH de todos os fosfitos utilizados foram regulados para 6.2 com NaOH 1M, evitando assim efeitos fitotóxicos nas plantas.

Em futuro estudo, o fosfito de potássio e fosfito + arginina devem ser regados no solo ou corrigido o seu pH deixando próximo de 6,0 e pulverizar sob as folhas visando verificar o efeito sobre a severidade da antracnose nas variedades de feijoeiro bem como se há ou não fitotoxidez nas plantas. Além disso, espera-se verificar se há uma contribuição maior da arginina em mistura com o produto fosfito de potássio no controle preventivo da antracnose em plantas de feijoeiro.

No presente estudo, observou-se, numericamente, diferença nas variedades de feijoeiro, suscetível e moderadamente resistente, quanto ao percentual de fitotoxidez foliar utilizando a mesma concentração do fosfito de potássio, com destaque para maior fitotoxidez para a variedade moderadamente resistente. Segundo estudo de Peruch et al. (2008), o efeito de doses do fosfito de potássio na produtividade e na fitotoxidez são aspectos que devem ser estudados, pois sabe-se que diferentes espécies e cultivares de plantas podem apresentar tolerâncias distintas ao produto.

## 8) CONCLUSÕES

- ✓ O isolado IAC 14.786 do fungo *C. Lindemuthianum* raça 83 foi patogênico em folha e vagem autoclavada de feijoeiro e demonstrou ser o causador dos sintomas.
- ✓ A concentração de 20 g de L Arginina HCl por litro de meio foi a que melhor interferiu negativamente no crescimento micelial de *C. lindemuthianum*.
- ✓ Fosfito de potássio utilizado isolado inibiu completamente o crescimento micelial de *C. lindemuthianum*.

- ✓ As concentrações de 15 e 20 g de L Arginina HCl, assim como o tratamento com fosfito de potássio + L Arginina HCl, alteraram morfoculturalmente o fungo *C. lindemuthianum* (colônia branca, hifas alteradas e ausência de produção de conídios).
- ✓ Fosfito de potássio foi o tratamento que propiciou a menor severidade média da doença na folha verdadeira nas duas variedades.
- ✓ A variedade JPA Ant é mais suscetível a antracnose do que a Alvorada
- ✓ O tratamento fosfito de potássio causou fitotoxidez nas duas variedades, destacando-se fosfito + arginina na variedade moderadamente resistente.
- ✓ Fosfito de potássio e fosfito + Arginina apresentaram pH altamente ácido e isso reflete em termos de fitotoxidez nas plantas.
- ✓ A L arginina HCl não contribuiu com o fosfito de potássio **na redução do** crescimento micelial do fungo, no controle da doença nas duas variedades de feijão, bem como também não foi a responsável por causar fitotoxidez nas plantas.

## 9) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, G.F.; TALAMINI, V.; STANDNIK, M.J. Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 34, p. 78-82, 2008.

ABEL, S.; TICCONI, C. A.; DELATORRE, C. A. Phosphate sensing in higher plants. *Physiologia Plantarum*, v. 115, n. 1, p. 1-8, 2002.

ALZATE-MARIN, A.L.; COSTA, M.R.; MENARIM, H.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Herança da resistência à antracnose na cultivar de feijoeiro comum Cornell 49- 242. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 302-306, 2003.

BALARDIN, R. S. Identificação de raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* no Rio Grande do Sul – Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, p. 50-53. 1997.

BARROS, R. G.; YOKOYAMA, M.; COSTA, J. L. da S. Compatibilidade do inseticida

thiamethoxam com fungicidas utilizados no tratamento de sementes de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 31, p. 153-157, 2001.

BARRUS, M.F. Bean anthracnose. Ithaca: **Cornell University Agricultural Experiment Station**, v. 42, p. 101-215, 1921.

BERGMAN, S., Hot treatment of seed-borne fungi on cereals. **Seed Pathology and Microbiology**, v. 5, p. 20-21. 1994.

BORA, P.; HARDY, G. E. St J.; O'BRIEN, P. A. Laccase activity and maceration of lupin tissue by *Rhizoctonia solani* is inhibited by arginine. **Australasian Plant Pathology**, v. 34, p. 591–594, 2005.

BRACKMANN, A.; GIEHL, R. F. H.; SESTARI, I.; STEFFENS, C. A. Fosfitos para o controle de podridões pós-colheita em maçãs Fuji durante o armazenamento refrigerado. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1039-1042, 2004.

CAMPA, A.; GUAL, J.; CASAÑAS, F.; FERREIRA, J. J. Búsqueda de fuentes de resistência frente a las variantes patogénicas de Antracnosis aisladas en Cataluña para la mejora genética de la judía tipo Ganxet. **Actas de la AEL**, v. 2, p.131-136. 2003.

CARBONELL, S.A.M.; ITO, M.F.; POMPEU, A.S.; FRANCISCO, F.; RAVAGNANI, S.; ALMEIDA, A.L.L. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* e reação de cultivares e linhagens de feijoeiro no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p.60-65, 1999.

CASTRO, G. S. A.; BOGIANI, J. C.; SILVA, M. G. D.; GAZOLA, E.; ROSOLEM, C. A. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um V. Q. de Souza et al. 165 Gl. **Sci Technol**, Rio Verde, v.08, n.01, p.157 – 166, jan/abr. 2015. Bioestimulante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p.1311-1318, 2008

CHAVES, G. **La Antracnosis**. In: SCHWARTZ, H.F.; GALVEZ, G.E. (eds.). Problemas de producción del frijol; enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris*. Cali: CIAT, p. 37-53, 1980.

DAMASCENO E SILVA, K.J.; SOUZA, E.A.; ISHIKAWA, F.H. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from the state of Minas Gerais, Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 155, p. 241-247, 2007.

DEL RÍO, L. E.; LAMPPA, R. S.; GROSS, P. L. Characterization of the reaction of North Dakota dry bean cultivars to three races of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Plant Disease**, v. 87, p. 263-265. 2003.

DIANESE, A.C.; BLUM, L.E.B. **uso de fosfitos no manejo de doenças fúngicas em fruteiras e soja** Brasília – DF: Embrapa Cerrados, 2010. (Documentos).

EMBRAPA – **Arroz e Feijão. Cultivo do Feijoeiro Comum**. Sistemas de Produção, 2, Janeiro 2003. Disponível em: Acessado em: 02 de Março. 2011

FANCELLI A.L.; DOURADO, D. (Ed.). **Feijão irrigado: estratégias básicas de manejo**. Piracicaba: ESALQ, 1999. p. 9-23

FENN, M.A.; COFFEY, M.D. Studies on the *in vitro* and *in vivo* antifungal activity of fosethylal and phosphorous acid. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, p. 606-611, 1984.

FISCHER, I.H.; SILVA, L.M.; BERTANI, R.M.A.; DEUS, A.C.F.; SILVA, V.M.; SILVA, M.A. Target Spot Control and Modulation of the Physiology in Cucumber Using Phosphites and Chitosan. **Gesunde Pflanzen**, v. 28, p. 1-11, 2021.

GUZMÁN, P.; DONADO, M.R.; GÁLVEZ, G.E. Pérdidas económicas causadas por la antracnosis del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) em Colombia. **Turrialba**, p.65-67, 1979.

ITO, M. F., CASTRO, J. L. DE, MENTEN, J. O. M., MORAES, M. H. D. de Importância do uso de sementes sadias de feijão e tratamento químico. Informativo Técnico, O

agronômico Campinas, p. 55, 2003.

KIMATI, H. **Doenças do feijoeiro – *Phaseolus vulgaris***. In: GALLI, F. (ed.). Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1980. p. 297-318.

KHAN, M. A.; ZHIHUI, C. Influence of garlic root exudates on cyto-morphological alteration of the hyphae of *Phytophthora capsici*, the cause of Phytophthora blight in pepper. **Pakistan Journal of Botany**, v. 42, n. 6, p. 4353–4361, 2010.

LOBATO, M. C.; OLIVIERI, F. P.; GONZÁLEZ ALTAMIRANDA, E. A.; WOLSKI, E. A.; DALEO, G. R.; CALDIZ, D. O.; ANDREU, A. B. Phosphite compounds reduce disease severity in potato seed tubers and foliage. *European Journal of Plant Pathology*, v. 122, n. 3, p. 349-358, 2008.

LOVATT, C. J.; MIKKELSEN, R. L. Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do? *Better Crops*, v. 90, n. 4, p. 11-13, 2006.

MACHADO, J.C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000, 138p.

MALAVOLTA, E.; FAVARIN, J. L.; CABRAL, C. P.; HEINRICHS, R.; SILVEIRA, J. S. M. Repartição de nutrientes nos ramos, folhas e flores do cafeeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 37, n. 7, p. 1017-1022, 2002.

McDONALD, A. E.; GRANT, B.; PLAXTON, W. C. Phosphite (phosphorous acid): Its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. *Journal of Plant Nutrition*, v. 24, n. 10, p. 1505-1519, 2001.

MCDONALD, B.A.; LINDE, C. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. **Euphytica**, v. 124, p.163-180, 2002.

MEDEIROS, Nathália de Lima. Influência de fosfito de potássio no desenvolvimento inicial de



feijão, pimentão e soja. 2015.

MESQUITA, A. G. G., PAULA, T. J., JR., MOREIRA, M. A., BARROS, E. G. Identification of races of *Colletotrichum lindemuthianum* with the aid of PCRbased molecular markers. **Plant Disease**, v. 82, p. 1084- 1087. 1998.

MIGOTTO, B.C.; FERREIRA, A.B.M.; BUENO, C.J. *Cylindrocladium spathiphylli* de espatifilo: relação da patogênese com produção *in vitro* da enzima lacase. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 1, p. 52-54, 2017.

MOOR, U.; PÖLDMAA, P.; TÕNUTAREA, T.; KARPA, K.; STARASTA, M.; VOOL, E. Effect of phosphite fertilization on growth, yield and fruit composition of strawberries. *Scientia Horticulturae*, v. 119, n. 3, p. 264-269, 2009

NOJOSA, A. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Indução de resistência de plantas a patógenos e insetos. Usos de fosfitos e silicatos na indução de resistência. Piracicaba: Fealq, 2005.

NOZAKI, Marcia Holanda; KLIEMANN, Odir ANDRÉ. Avaliação do uso de fosfito no controle da antracnose em feijoeiro comum. *Agrarian*, v. 9, n. 31, p. 19-25, 2016.

ÖHLUND, Jonas; NÄSHOLM, Torgny. Growth of conifer seedlings on organic and inorganic nitrogen sources. **Tree Physiology**, v. 21, n. 18, p. 1319-1326, 2001.

PARANAGAMA, P. A.; ABEYSEKERA, K. H.T.; ABEYWICKRAMA, K.; *et al.* Fungicidal and anti-aflatoxic effects of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (lemongrass) against *Aspergillus flavus* Link. isolated from stored rice. **Letters in Applied Microbiology**, v. 37, n. 1, p. 86–90, 2003.

PARRELLA, N.N.L.D.; SANTOS, J.B. dos; PARRELLA, R.A. da C. Seleção de famílias de feijão com resistência à antracnose, produtividade e tipo de grão carioca. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p.1503-1 509, 2008.

PASTOR-CORRALES, M.A.; TU, J.C. **Anthracnose**. In: SCHWARTZ, A.F.; PASTORCORRALES, M.A. (eds.). Bean production problems in the tropics. Cali: CIAT, p. 77-104, 1989.

PASTOR-CORRALES, M. A. Estandarización de variedades diferenciales y de designación de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Phytopathology**, v. 81, p. 694 (Abstract). 1991.

PEREIRA, F.O.; WANDERLEY, P.A.; VIANA, F.A.C.; LIMA, R.B.; SOUSA, F.B.; LIMA, E.O. Growth inhibition and morphological alterations of *Trichophyton rubrum* induced by essential oil from *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 233-242, 2011.

PERUCH, Luiz Augusto Martins; BRUNA, Emílio Della. Relação entre doses de calda bordalesa e de fosfito potássico na intensidade do míldio e na produtividade da videira cv.'Goethe'. *Ciência Rural*, v. 38, n. 9, p. 2413-2418, 2008.

RATJEN, A. M.; GERENDÁS, J. A critical assessment of the suitability of phosphite as a source of phosphorus  
*Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, v. 172, n. 6, p. 821-828, 2009.

RAVA, C. A.; MOLINA, J.; KAUFFMANN, M.; BRIONES, I. Determinación de razas fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* em Nicarágua. **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, p. 388-391, 1993.

TOBA, Hiroe et al. Calcium channel blockades exhibit anti-inflammatory and antioxidative effects by augmentation of endothelial nitric oxide synthase and the inhibition of angiotensin converting enzyme in the NG-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypertensive rat aorta: vasoprotective effects beyond the blood pressure-lowering effects of amlodipine and manidipine. **Hypertension research**, v. 28, n. 8, p. 689-700, 2005.

VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. Controle de Doenças de Plantas: grandes culturas. Viçosa:

UFV, 1997. p. 335-340.

VIEIRA, C. O feijoeiro comum: cultura, doenças e melhoramento. Viçosa: UFV, 1967, 220p.

SARTORATO, A. Determinação da variabilidade patogênica do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (sac.) Scrib. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa, UFV, 2002. p. 114-116.

SARTORATO, Aloisio; RAVA, Carlos A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle.** EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 1994.

SCHWARTZ, H. F.; PASTOR-CORRALES, M. A.; SINGHI, S. P. New sources of resistance to anthracnose and angular leaf spot of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) **Euphytica**, v. 31, p. 741-754. 1982.

SONEGO, O. R.; GARRIDO, L. R.; CZERMAINSKI, A. B. C. **Avaliação de fosfitos no controle do míldio da videira.** Bento Gonçalves RS. Embrapa Uva e Vinho. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 11, 2003.

SPOLTI, Piérri et al. Modo de ação de fosfitos de potássio no controle da podridão olho de boi em maçã. *Summa Phytopathologica*, v. 41, n. 1, p. 42-48, 2015

TAKANO, Eunice Hitomi et al. Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergente derivado de óleo da mamona (*Ricinus communis*). **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1235-1240, 2007.

THOMAZELLA, C.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL FILHO, P. S.; NUNES, W. M. C.; VIDA, J. B. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* races in Paraná state, Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, p. 55-60, 2002a.

WALKER, J.C. **Diseases of bean and lima bean.** In: WALKER, J.C. (ed.). *Diseases Vegetable Crops.* New York: MacgrawHill, p.10-56. 1952.

ZAMBOLIN, L.; CHAVES, G.M. Doenças do feijoeiro e seu controle. **Informe Agropecuário**, v. 4, p.50-63, 1978.

ZAUMEYER, W.J.; THOMAS, H.R. **A monographic study of bean diseases and methods for their control**. Washington: USDA, 868:5-15, 1957.

ZHENG, Yang et al. Preharvest L-arginine treatment induced postharvest disease resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 12, p. 6543-6549, 2011.