

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – DOUTORADO

POLYANA ELVIRA TOBIAS PINTO CHRISTMANN

CONTROLE BIOLÓGICO DA ANTRACNOSE NA CULTURA DO FEIJÃO COM
ESPÉCIES DE *Trichoderma*

PONTA GROSSA
2022

POLYANA ELVIRA TOBIAS PINTO CHRISTMANN

CONTROLE BIOLÓGICO DA ANTRACNOSE NA CULTURA DO FEIJÃO COM
ESPÉCIES DE *Trichoderma*

Tese apresentada à Universidade Estadual de Ponta
Grossa para a obtenção do título de Doutora em
Agronomia - Área de Concentração: Agricultura

Orientadora: Prof^a Dr^a Maristella Dalla Pria

PONTA GROSSA
2022

C555 Christmann, Polyana Elvira Tobias Pinto
Controle biológico da Antracnose na cultura do feijão com espécies de
Trichoderma / Polyana Elvira Tobias Pinto Christmann. Ponta Grossa, 2022.
107 f.

Tese (Doutorado em Agronomia - Área de Concentração: Fitotecnia e
Fitossanidade), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Maristella Dalla Pria.

1. Acibenzolar-s-metílico. 2. Controle biológico. 3. *Colletotrichum*
lindemuthianum. 4. *Phaseolus vulgaris*. 5. *Trichoderma* spp.. I. Dalla Pria,
Maristella. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fitotecnia e Fitossanidade.
III.T.

CDD: 633



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <https://uepg.br>

CERTIDÃO - DOUT-AGRO
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título da Tese: " Controle biológico da antracnose na cultura do feijão com espécies de *Trichoderma*"

Nome: Polyana Elvira Tobias Pinto Christmann

Orientadora: Profa. Dra. Maristella Dalla Pria

Aprovado pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Maristella Dalla Pria

Profa. Dra. Amanda Regina Godoy Baptista

Profa. Dra. Cacilda Márcia Duarte Rios Faria

Profa. Dra. Kátia Regina Freitas Schwan Estrada

Profa. Dra. Louise Larissa May De Mio

Data da Realização: 02 de junho de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Amanda Regina Godoy Baptista**, Professor(a), em 03/06/2022, às 14:11, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Maristella Dalla Pria**, Professor(a), em 03/06/2022, às 14:28, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Louise Larissa May De Mio**, Usuário Externo, em 13/06/2022, às 11:06, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Cacilda Márcia Duarte Rios Faria**, Usuário Externo, em 14/06/2022, às 14:58, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **katia regina freitas schwan estrada**, Usuário Externo, em 09/08/2022, às 09:57, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador 1007288 e o código CRC A45CC185.

À minha família,
DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus acima de todas as coisas que, além de me dar o dom da vida, esteve ao meu lado em todos os momentos.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), ao curso Agronomia e ao curso de Pós-Graduação em Agronomia pela estrutura, suporte e apoio prestado.

Aos Professores desta instituição pela qualidade de ensino e contribuição à minha formação na graduação, mestrado e agora no curso de doutorado. Sem vocês nada disso seria possível.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal e Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa em boa parte do doutorado.

À Universidade Estadual do Centroeste (UNICENTRO) pelos isolados de *Trichoderma* e à empresa Innova[®] pelos formulados comerciais de *Trichoderma* cedidos para a pesquisa.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Maristella Dalla Pria, por aceitar me orientar, apoio, paciência e acima de tudo pela sua amizade e ensinamentos desde o mestrado.

Ao Prof^o Dr^o David de Souza Jaccoud Filho que aceitou participar dessa etapa tão importante, o meu muito obrigada.

Aos meus pais Soily Tobias Pinto Christmann e Pedro Volnei Christmann, por me ensinarem desde sempre os verdadeiros valores na vida, a trabalhar dignamente, com ética, honestidade e respeito, além de todo apoio, incentivo e auxílio nos momentos mais difíceis. Tudo que sou e tenho hoje devo a vocês, amo vocês.

Aos meus avós Nair Caetano Pinto e Tobias João Pinto, por todas as orações, momentos felizes e apoio em mais essa conquista.

Ao meu noivo Edinei Steger Rinaldi por estar comigo desde o início dessa jornada, suportando choros, reclamações e me dando todo suporte emocional e até mesmo auxiliando na nos trabalhos dessa tese. Sem você, nada disso seria possível, te amo muito!

As técnicas Luciane Henneberg e Zima Richter, por todos os conselhos, carinhos, incentivos, abraços, auxílios, amizade e cafezinhos desde que cheguei ao laboratório.

Aos colegas do laboratório F-26 que me auxiliaram para realização deste trabalho: Hagata Siqueira Hennipman, Pâmela Vanessa Scortegagna, Joseane Serber, Larissa Erika Carvalho Luiz, Rafaela Philipovsky Marcantes, Alexandre Gonçalves Ochonski, Andriéli Terezinha dos Santos Assunção, Jeniffer Lauber, Milena Aparecida Martincoski, Taize Schafranski, José Luiz Berger Camargo Junior e a todos que me ajudaram durante todo meu projeto, meu muito obrigada.

Aos funcionários da Fazenda Escola, Capão da Onça, por toda ajuda e auxílio durante meus trabalhos no campo.

A toda equipe da empresa TS4W que me recebeu de braços abertos e por terem disponibilizado a plataforma Avalia para coleta dos meus dados a campo, muito obrigada por tudo.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

“Você comerá do fruto do seu trabalho, e será feliz e próspero.”
(Salmos 12)

RESUMO

A cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*) é muito importante para os brasileiros, porém alguns fatores podem afetar negativamente sua produtividade, em especial a incidência de doenças. A antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) é uma das principais, podendo causar dano total da produção. O objetivo desse trabalho foi avaliar espécies de *Trichoderma*, acibenzolar-S-metílico para indução de resistência e fungicida hidróxido de fentina em plantas de feijão das cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero para proteção contra a antracnose. Foram realizados experimentos em casa de vegetação com avaliação da severidade da antracnose e tratamento de sementes, em folha destacada, em campo em três localidades com avaliação de severidade e produtividade, análise sanitária de sementes e análises enzimáticas. Houve redução na severidade da antracnose em ambas cultivares nas condições de casa de vegetação com a aplicação dos tratamentos, com destaque para *Trichoderma* spp. Para a cultivar IPR Tuiuiú, as variáveis porcentagem de emergência e plântulas sadias não foram afetadas positivamente com a aplicação dos tratamentos. Para a cultivar IPR Quero-Quero, em geral o tratamento das sementes com *Trichoderma* spp. resultou em maiores porcentagens de emergência e plântulas sadias para ambos os experimentos. No teste de transmissibilidade em rolo de papel a aplicação de todos os tratamentos reduziu a incidência do patógeno das sementes das duas cultivares. No experimento de folha destacada observou-se que os tratamentos foram capazes de reduzir a severidade da antracnose nas folhas, mas não foi observada indução de resistência sistêmica em ambas cultivares avaliadas. Nos experimentos de campo em Ponta Grossa – PR, todos os tratamentos testados reduziram a AACPD da antracnose nas duas cultivares, mas não foram observadas diferenças com relação aos componentes de produção nas três safras. Em Prudentópolis – PR houve redução da AACPD com a aplicação dos tratamentos e aumento de produtividade em relação ao controle. No município de Teixeira Soares – PR o tratamento foliar não foi capaz de gerar redução da antracnose e houve redução de produtividade quando comparado ao fungicida. A incidência da antracnose foi reduzida em sementes oriundas dos campos de todos os tratamentos que receberam aplicação foliar, quando comparados ao controle. Houve aumento na concentração da faseolina nas duas cultivares testadas quando comparados ao controle. O tratamento das sementes não promoveu aumento da atividade da peroxidase para as cultivares, mas na presença de *C. lindemuthianum* houve incremento na cultivar IPR Quero-Quero. Para polifenoloxidase, a atividade enzimática foi menor que o controle para a cultivar IPR Quero-Quero e na presença do patógeno as espécies *T. asperellum*, *T. harzianum* e *T. koningiopsis* proporcionaram aumento na atividade da polifenoloxidase. O uso de *Trichoderma* spp. pode ser uma alternativa viável para a proteção contra *C. lindemuthianum* em sementes de feijão das cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em casa de vegetação. O uso de *Trichoderma* spp. para controle da antracnose pode resultar em eficiência igual ou superior àquela obtida com o uso de fungicidas em condições de campo.

Palavras-chaves: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaseolus vulgaris*, *Trichoderma* spp., acibenzolar-S-metílico, controle biológico, resistência sistêmica.

ABSTRACT

The Culture of Beans (*Phaseolus vulgaris*) is very important for Brazilians, however, some factors might negatively affect their productivity, especially the incidence of diseases. Anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) is one of the main diseases, which may cause total damage to production. The objective of this work was to evaluate *Trichoderma* species, acibenzolar-S-methyl for resistance induction and fentin hydroxide fungicide in bean plants of the cultivars IPR Tuiuiú and IPR Quero-Quero for protection against anthracnose. Experiments were carried out in a greenhouse with evaluation of the severity of anthracnose and treatment of seeds, in detached leaf, in the field in three locations with evaluation of severity and productivity, sanitary analysis of seeds and enzymatic analysis. There was a reduction in the severity of anthracnose in both cultivars under greenhouse conditions with the application of treatments, with emphasis on *Trichoderma* spp. For the cultivar IPR Tuiuiú, the variables percentage of emergence and healthy seedlings were not positively affected with the application of the treatments. For the cultivar IPR Quero-Quero, in general, seed treatment with *Trichoderma* spp. resulted in higher percentages of emergence and healthy seedlings for both experiments. In the paper roll transmissibility test, the application of all treatments reduced the incidence of the pathogen in the seeds of both cultivars. In the detached leaf experiment, it was observed that the treatments were able to reduce the severity of anthracnose in the leaves, but no induction of systemic resistance was observed in both cultivars evaluated. In the field experiments in Ponta Grossa – PR, all the treatments tested reduced the AUDPC of anthracnose in the two cultivars, but no differences were observed in relation to the components of production in the three growing seasons. In Prudentópolis – PR there was a reduction in AUDPC with the application of treatments and an increase in productivity in relation to the control. In the city of Teixeira Soares – PR, the foliar treatment was not able to generate anthracnose reduction and there was a reduction in productivity when compared to the fungicide. The incidence of anthracnose was reduced in seeds from the fields of all treatments that received foliar application, when compared to the control. There was an increase in the concentration of phaseolin in the two cultivars tested when compared to the control. Seed treatment did not promote an increase in peroxidase activity for the cultivars, but in the presence of *C. lindemuthianum* there was an increase in the cultivar IPR Quero-Quero. For polyphenoloxidase, the enzymatic activity was lower than the control for the cultivar IPR Quero-Quero and in the presence of the pathogen the species *T. asperellum*, *T. harzianum* and *T. koningiopsis* provided an increase in polyphenoloxidase activity. The use of *Trichoderma* spp. may be a viable alternative for protection against *C. lindemuthianum* in bean seeds of cultivars IPR Tuiuiú and IPR Quero-Quero in a greenhouse. The use of *Trichoderma* spp. for anthracnose control might result in efficiency equal to or greater than that obtained with the use of fungicides under field conditions.

Keywords: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaseolus vulgaris*, *Trichoderma* spp., acibenzolar-S-methyl, biological control, systemic resistance.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Sintomas de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em feijão (*Phaseolus vulgaris*). Sintomas nas nervuras dos folíolos e nos pecíolos (A); sintomas deprimidos nas vagens com massa rósea de esporos (B); acérvulo e esporos do fungo retirados das lesões presentes nas vagens (C). Ponta Grossa – PR, 2022...21
- FIGURA 2 - Plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) cultivadas em casa de vegetação para aplicação dos tratamentos e proteção contra *Colletotrichum lindemuthianum*. Plantas após a emergência (A); meio vagem para cultivo do inóculo (B); acérvulo e esporos do fungo produzidos no meio vagem (C); plantas em câmara úmida após a inoculação do patógeno (D). Ponta Grossa – PR, 2022. 33
- FIGURA 3 - Escala diagramática de severidade da antracnose em feijão (*Phaseolus vulgaris*) causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (porcentagem de área foliar coberta por sintomas). 34
- FIGURA 4 - Experimento de tratamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) após inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*. Bandeja com substrato (A); semeadura das sementes inoculadas e tratadas (B); plântulas após 15 dias da semeadura (C). Ponta Grossa – PR, 2022. 35
- FIGURA 5 - Trifólio de feijão (*Phaseolus vulgaris*) utilizado no teste de folha destacada com aplicação dos tratamentos (lado esquerdo) e sem aplicação dos tratamentos (lado direito) para controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). Ponta Grossa – PR, 2022..... 37
- FIGURA 6 - Sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) dispostas em folhas de papel germinação para avaliação da qualidade sanitária pelo método de incubação em rolo de papel (A); momento da avaliação (B); semente com sintoma de *Colletotrichum lindemuthianum* no cotilédone (C). Ponta Grossa - PR, 2022. 41
- FIGURA 7 - Semeadura de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) IPR Quero-Quero e IPR Tuiuiú em bandeja contendo areia esterilizada (A); emergência das plântulas após 7 dias em câmara climatizada no escuro para estiolamento dos hipocótilos (B); segmentos de hipocótilos estiolados cortados e acomodados em gerbox para aplicação dos tratamentos (C) e hipocótilos em tubo de ensaio com etanol para extração da faseolina (D). Ponta Grossa – PR, 2022. 42

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Produtos pulverizados em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>) cultivadas em casa de vegetação com respectivas doses para controle de antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>). Ponta Grossa – PR, 2022.....	32
TABELA 2 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em casa de vegetação após aplicação dos tratamentos e inoculação com o patógeno. Ponta Grossa – PR, 2022.....	46
TABELA 3 - Emergência (%) e plântulas saudáveis (%) de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>) cultivar IPR Tuiuiú 15 dias após tratamento, inoculação e semeadura das sementes em casa de vegetação. Ponta Grossa – PR, 2022.	48
TABELA 4 - Emergência (%) e plântulas saudáveis (%) de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>) cultivar IPR Quero-Quero 15 dias após tratamento, inoculação e semeadura das sementes em casa de vegetação. Ponta Grossa – PR, 2022.	50
TABELA 5 - Incidência de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> em sementes de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, após tratamento, inoculação e incubação por sete dias pelo método do rolo de papel. Ponta Grossa – PR, 2022.	51
TABELA 6 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) no teste em folha destacada de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, com aplicação dos tratamentos (lado esquerdo), sem aplicação (lado direito) e inoculação com o patógeno. Ponta Grossa – PR, 2022.	53
TABELA 7 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, safra 2019/2020. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.....	55
TABELA 8 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, safra 2020/2021. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.....	57
TABELA 9 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>),	

cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, safra 2021/2022. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.....	59
TABELA 10 - Componentes de rendimento plantas por metro (plantas m ⁻¹), vagens por planta (vagens planta ⁻¹), grãos por vagem (grãos vagem ⁻¹) e produtividade (kg ha ⁻¹) em função dos tratamentos aplicados em feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, safra 2019/2020. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.....	61
TABELA 11 - Componentes de rendimento plantas por metro (plantas m ⁻¹), vagens por planta (vagens planta ⁻¹), grãos por vagem (grãos vagem ⁻¹) e produtividade (kg ha ⁻¹) em função dos tratamentos aplicados em feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivar IPR Tuiuiú, safra 2020/2021. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.	63
TABELA 12 - Componentes de rendimento plantas por metro (plantas m ⁻¹), vagens por planta (vagens planta ⁻¹), grãos por vagem (grãos vagem ⁻¹) e produtividade (kg ha ⁻¹) em função dos tratamentos aplicados em feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, safra 2021/2022. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.....	64
TABELA 13 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) e produtividade (kg ha ⁻¹) de plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivar IPR Tuiuiú em campo, safra 2019/2020. Unidade Demonstrativa Experimental Oscar Rickli. Prudentópolis – PR, 2022.....	65
TABELA 14 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivar IPR Tuiuiú em campo, safra 2020/21. Fazenda Xaxim, Teixeira Soares – PR, 2022.	67
TABELA 15 - Componentes de rendimento plantas por metro (plantas m ⁻¹), vagens por planta (vagens planta ⁻¹), grãos por vagem (grãos vagem ⁻¹) e produtividade (kg ha ⁻¹) em função dos tratamentos aplicados em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivar IPR Tuiuiú, em duas épocas de semeadura, safra 2020/21. Fazenda Xaxim, Teixeira Soares – PR, 2022.	68
TABELA 16 - Incidência (%) de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> em sementes após teste de patologia em função da aplicação dos produtos em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em condições de campo,	

safras 2019/2020, 2020/2021 e 2021/2022. Fazenda Escola Capão da Onça, Ponta Grossa – PR, 2022.....	70
TABELA 17 - Incidência (%) de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> em sementes após teste de patologia em função da aplicação dos produtos em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivar IPR Tuiuiú em condições de campo, safra 2019/2020. Unidade Demonstrativa Experimental Oscar Rickli. Prudentópolis – PR, 2022.....	71
TABELA 18 - Incidência (%) de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> em sementes após teste de patologia em função da aplicação dos produtos em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivar IPR Tuiuiú em condições de campo, em duas épocas de semeadura, safra 2020/2021. Fazenda Xaxim, Teixeira Soares – PR, 2022.....	72
TABELA 19 - Acúmulo de faseolina em unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS g fw ⁻¹), em hipocótilos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, em função da aplicação dos produtos em condições de laboratório. Ponta Grossa – PR, 2022.	73
TABELA 20 - Acúmulo de peroxidase de guaiacol expressa em unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS g fw ⁻¹), em folhas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, sete dias após o tratamento de sementes com produtos. Ponta Grossa – PR, 2022.....	75
TABELA 21 - Acúmulo de peroxidase de guaiacol expressa em unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS g fw ⁻¹), em folhas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, sete dias após tratamento de sementes, 24 e 48 horas após inoculação com <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> . Ponta Grossa – PR, 2022.....	76
TABELA 22 - Acúmulo de polifenoloxidase expressa em unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS g fw ⁻¹), em folhas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, sete dias após o tratamento de sementes com produtos. Ponta Grossa – PR, 2022.....	78
TABELA 23 - Acúmulo de polifenoloxidase expressa em unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS g fw ⁻¹), em folhas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, sete dias após tratamento de sementes, 24 e 48 horas após inoculação com <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> . Ponta Grossa – PR, 2022.....	80

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVO	17
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 CULTURA DO FEIJÃO	18
3.2 ANTRACNOSE	20
3.2.1 Sintomatologia	20
3.2.2 Etiologia	21
3.3 MANEJO DA ANTRACNOSE	23
3.3.1 Indução de resistência	24
3.3.1.1 O gênero <i>Trichoderma</i>	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 EXPERIMENTOS EM CASA DE VEGETAÇÃO	31
4.1.1 Avaliação da severidade	31
4.1.2 Tratamento de sementes	34
4.2 EXPERIMENTO EM FOLHA DESTACADA	36
4.3 EXPERIMENTOS EM CAMPO	38
4.4 QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES	40
4.5 FASEOLINA	41
4.6 ANÁLISE ENZIMÁTICA	42
4.6.1 Extrato enzimático	42
4.6.2 Peroxidase de guaiacol (E.C. 1.11.1.7)	43
4.6.3 Polifenoloxidase (EC 1.10.3.2)	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 EXPERIMENTOS EM CASA DE VEGETAÇÃO	45
5.1.1 Avaliação da severidade	45
5.1.2 Tratamento de sementes	48
5.2 EXPERIMENTO EM FOLHA DESTACADA	52
5.3 EXPERIMENTOS EM CAMPO	54
5.3.1 Fazenda Escola Capão da Onça	54
5.3.2 Unidade Demonstrativa Experimental Oscar Rickli	64
5.3.3 Fazenda Xaxim	66
5.4 QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES	69

5.5 FASEOLINA	72
5.6 ANÁLISE ENZIMÁTICA	74
5.6.1 Peroxidase de guaiacol (E.C. 1.11.1.7).....	74
5.6.2 Polifenoloxidase (EC 1.10.3.2)	78
6 CONCLUSÃO	81
REFERÊNCIAS	82
ANEXO A - Severidade (%) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, safra 2019/2020. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.....	98
ANEXO B - Severidade (%) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, em função do tempo, safra 2020/2021. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.....	99
ANEXO C - Severidade (%) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, em função do tempo, safra 2021/2022. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.....	100
ANEXO D - Severidade (%) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivar IPR Tuiuiú em campo, em função do tempo, safra 2019/2020. Unidade Demonstrativa Experimental Oscar Rickli. Prudentópolis – PR, 2022.....	101
ANEXO E - Severidade (%) da antracnose (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>) em plantas de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), cultivar IPR Tuiuiú em campo, em função do tempo, safra 2020/2021. Fazenda Xaxim, Teixeira Soares – PR, 2022.....	102
ANEXO F - Temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C), umidade relativa (%), velocidade do vento (m/s) e precipitação (mm) no período de março/2019 a dezembro/2019. Ponta Grossa – PR	103
ANEXO G - Temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C), umidade relativa (%), velocidade do vento (m/s) e precipitação (mm) no período de janeiro/2020 a dezembro/2020. Ponta Grossa – PR	104
ANEXO H - Temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C), umidade relativa (%), velocidade do vento (m/s) e precipitação (mm) no período de janeiro/2021 a dezembro/2021. Ponta Grossa – PR	105
ANEXO I - Temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C), umidade relativa (%), velocidade do vento (m/s) e precipitação (mm) no período de janeiro/2022 a março/2022. Ponta Grossa – PR.....	106

ANEXO J - Temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C), umidade relativa (%), velocidade do vento (m/s) e precipitação (mm) no período de setembro/2020 a abril/2021. Teixeira Soares – PR	107
---	-----

1 INTRODUÇÃO

A cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) tem grande representatividade para diversos países, mas em especial para o Brasil, levando em conta aspectos de consumo que partem desde o hábito cultural até assuntos que englobam segurança alimentar. O feijão é considerado um alimento saudável, fonte de proteínas, com consumo generalizado pela população brasileira, independente da classe social, configurado como um item significativo na cesta básica (FAOSTAT, 2021; SOUZA; WANDER, 2014).

Algumas condições desfavoráveis podem acometer a cultura do feijão e reduzir a produtividade. Dentre elas podemos citar as anomalias genéticas, arquitetura de planta, atributos do solo, competição com plantas daninhas, ocorrência de pragas e em especial a incidência e severidade de doenças.

As doenças podem ser de origem bacteriana, viral ou fúngica e uma das principais é a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Briosi & Cavares que pode ocasionar danos significativos ou até mesmo dano total na produção, além da depreciação e redução da qualidade dos grãos (PADDER *et al.*, 2017; WENDLAND *et al.*, 2016).

A antracnose é considerada uma das doenças mais cosmopolita do feijão, com registros de ocorrência na Europa, Ásia, África e Américas. Regiões com temperaturas moderadas, alta umidade relativa e dias nublados são favoráveis para incidência da doença. No Brasil, os registros mais frequentes têm sido nos Estados da Região Centro-Sul e regiões serranas onde se cultiva feijão (WENDLAND *et al.*, 2016).

Várias estratégias de controle podem ser empregadas no manejo integrado de doenças, como rotação com culturas não hospedeiras, uso de cultivares resistentes, controle biológico e controle químico (AGRIOS, 2005b; GADAGA *et al.*, 2017; SILVA JUNIOR; BEHLAU, 2018). Atualmente o controle da antracnose é baseado no uso de fungicidas, como estrobilurinas, ditiocarbamatos, triazóis, organoestênicos, entre outros (AGROFIT, 2022).

Contudo, o uso desordenado de agroquímicos pode ocasionar problemas no controle com a seleção de populações de patógenos que se tornam resistentes, o que onera e dificulta a produção, além da possibilidade de contaminação ambiental, humana e animais.

A busca por novas tecnologias que proporcionem a redução da possibilidade de seleção de populações resistentes e o custo de produção, inclusive que promovam aumento no espectro de controle de doenças é uma tática a ser adotada pela agricultura brasileira e mundial. Dessa

forma, as pesquisas que empregam fontes alternativas para o controle de doenças são fundamentais.

As plantas são favorecidas por mecanismos estruturais e bioquímicos que garantem as defesas contra patógenos. O complexo conjunto de mecanismos abrange sinais que começam com o reconhecimento do patógeno com reprogramação metabólica que resulta em respostas de defesa (CAVALCANTI; PEREIRA; RIBEIRO JÚNIOR, 2014; STANGARLIN *et al.*, 2011).

A indução de resistência nas plantas desencadeia o aumento do nível de resistência mediante uso de agentes externos (STADNIK, 2000). Esse aumento no nível de resistência ocorre de forma não específica, pela ativação de genes que codificam para diversas respostas de defesa na planta (CAVALCANTI *et al.*, 2005).

Dentre as fontes alternativas de controle podemos citar o uso de agentes biológicos, como é o caso das espécies do fungo *Trichoderma*, que são fungos sapróbio, habitantes muito comuns do solo e exercem antagonismo a vários microrganismos fitopatogênicos (MASSOLA JÚNIOR, 2018).

O controle de doenças com uso de *Trichoderma* spp. pode ser feito via controle direto de patógenos por antibiose, antagonismo ou parasitismo e também mediante estímulo de defesas nas plantas hospedeiras (BISEN *et al.*, 2016; DILDEY, 2017; FIGUEIRA *et al.*, 2020). Essas são decisões auspiciosas que devem ser levadas em conta na tomada de decisão e fazer parte do manejo integrado de doenças.

2 OBJETIVO

Avaliar diferentes espécies de *Trichoderma* aplicadas na cultura do feijão com finalidade de indução de resistência para proteção contra a antracnose.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar diferentes espécies de *Trichoderma* para indução de resistência em plantas de feijão para proteção contra a antracnose via aplicação foliar em laboratório, casa de vegetação e campo.

Analisar características de *Trichoderma* spp. para controle de *Colletotrichum lindemuthianum* via tratamento de sementes.

Averiguar a sanidade de sementes obtidas após o controle da antracnose via aplicação foliar em condições de campo.

Avaliar a ativação de mecanismos de defesa da planta pela análise das enzimas peroxidase de guaiacol (POX) e polifenoloxidase (POL) em plântulas de feijão via tratamento de sementes.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CULTURA DO FEIJÃO

A planta de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é classificada como anual, pertencente à classe Dicotyledoneae, subclasse Archichlamydeae, ordem Rosales, família *Fabaceae* e subfamília *Faboideae* (SANTOS *et al.*, 2015) e tem como centro de origem a América Latina. O feijão pode ser cultivado, principalmente, nas regiões tropicais e subtropicais do mundo e é considerado como um objeto de segurança alimentar, uma vez que seus grãos são importantes fontes de proteínas para as populações de países em desenvolvimento, especialmente para as classes com menor renda (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

O feijão é uma leguminosa que possui a emergência dos cotilédones na superfície do solo, ou seja, germinação epígea. É uma planta herbácea, trepadora ou não, com sistema radicular pivotante e parte aérea constituída por uma haste principal ramificada, ereta ou não. Possui folhas de dois tipos, sendo as primárias constituídas apenas de um folíolo, que se encontra no ápice do epicótilo e as folhas verdadeiras com três folíolos (SILVA, 2011).

O fruto é uma vagem, com comprimento entre 10-20 cm, recurvada ou não, comumente terminada com bico proeminente. Os grãos apresentam cores e tamanhos diversos, de acordo com as variedades. A fase vegetativa compreende o período de desdobramento das folhas primárias até o aparecimento dos primeiros botões florais e a fase reprodutiva desde a emissão dos botões florais até o pleno enchimento de vagens e maturação dos grãos. Há dois tipos de crescimento: indeterminado no qual uma gema vegetativa ou floral está presente na extremidade do caule e determinado no qual há uma inflorescência na extremidade caulinar (SANTOS *et al.*, 2015).

O feijão é cultivado em mais de 100 países e os maiores produtores mundiais, em ordem, são China, Índia, Myanmar e Brasil, responsáveis por 64,8% da produção mundial em 2020. Em relação à produção histórica, o desempenho do Brasil vem diminuindo ao contrário dos outros principais produtores mundiais (ARAGÃO; CONTIN, 2021). O consumo é pequeno em países com maior desenvolvimento e os maiores produtores são também os maiores consumidores mundiais, gerando assim poucos excedentes para exportação o que limita o comércio internacional do produto (COÊLHO, 2019).

No Brasil, há estimativa de que a cada 10 habitantes, sete consomem feijão diariamente, porém o consumo *per capita* no país diminuiu 42,5% nos últimos 40 anos, passando de 24,9 Kg para 14,3 Kg por habitante ao ano. Isso se deve ao fato da urbanização e ao aumento do tamanho da classe média no Brasil, fazendo com que a população migrasse o consumo de

feijão e arroz para proteínas de fontes animais, principalmente a carne de frango (PEIXOTO, 2019).

No Brasil, a produção de feijão possui algumas peculiaridades quando comparada à de outros grãos. A maior parte da produção, em torno de 70%, é proveniente da agricultura familiar, ao contrário do que ocorre com soja (*Glycine max* L.) e milho (*Zea mays* L.) que são cultivadas em extensas áreas por grandes produtores (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

Ocorrem três safras por ano, a 1ª safra ou safra das “águas”, com semeadura de agosto a dezembro concentrada nas Regiões Sul, Sudeste e Sul da Bahia. A 2ª safra ou safra da “seca” é semeada entre janeiro e julho e abrange todos os Estados brasileiros, com concentração na Região Nordeste e a 3ª safra ou safra de “inverno” divide-se em safra de sequeiro e irrigada, com semeadura de maio a agosto, concentrada nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Bahia (CARVALHO *et al.*, 2014).

O fato de o grão ser cultivado em todo o país, em várias safras, garante que durante todo o ano em alguma parte do território nacional tenha feijão sendo colhido ou semeado (SILVA; WANDER, 2013). São cultivados vários tipos e grupos comerciais, dentre eles os tipos: preto, carioca, roxo, mulatinho, rosinha, vermelho, manteigão, entre outros (VIEIRA; PAULA JÚNIOR; BORÉM, 2006). O tipo mais aceito e consumido pelo mercado brasileiro é o carioca, presente em todas as regiões produtoras do país, corresponde a mais de 70% do feijão consumido pela população (PEREIRA *et al.*, 2012).

O feijão tipo preto é o segundo mais cultivado e consumido no país, apresenta maior aceitação nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Rio de Janeiro e Espírito Santo (CARNEIRO; PAULA JÚNIOR; BORÉM, 2015). Segundo dados da CONAB (2020) a Região Sul é responsável por mais de 90% da produção de feijão tipo preto no Brasil, sendo o Paraná o maior Estado produtor.

Para 2021/2022, a primeira safra tem estimativa de produção de cerca de 929,4 mil toneladas de feijão, com a soma dos tipos comum cores, comum preto e caupi. Esse resultado é 4,8% menor em relação ao obtido em 2020/2021, especialmente devido as estiagens registradas na Região Sul ao longo do ciclo da cultura, impactando na produtividade das lavouras. Além do mais, as altas temperaturas e redução na área plantada nessa região resultaram em diminuição considerável no volume esperado. A Região Sul é muito relevante para a produção de feijão nessa primeira safra e isso acarretou queda nas estimativas nacionais para o grão (CONAB, 2022).

As plantas de feijão se adaptam a diferentes condições edafoclimáticas, por isso podem ser cultivadas durante todo o ano em várias regiões e em quase todos os Estados brasileiros,

favorecendo a constante oferta do produto no mercado (BONETT *et al.*, 2006). Com o aumento dos cultivos onde o feijão é rotacionado com mais uma ou duas culturas anuais, geralmente soja e milho, houve aumento da pressão de doenças no campo. Nos sistemas de produção irrigados ou de sequeiro, existem condições favoráveis para o desenvolvimento de um complexo de patógenos com ampla gama de hospedeiros e/ou que sobrevivem no solo, que podem dificultar o cultivo de feijão (LOBO JUNIOR; MACHADO-ROSA; GERALDINE, 2019). Dentre essas doenças pode-se citar a antracnose como uma das principais que resultam em danos à cultura do feijão.

3.2 ANTRACNOSE

A antracnose tem como agente etiológico o fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Briosi & Cavara e é a principal doença fúngica da cultura do feijão. É considerada uma doença muito destrutiva em regiões com temperaturas moderadas e alta umidade relativa do ar, com danos que podem chegar a até 100% nas cultivares com alta suscetibilidade, além do comprometimento da qualidade das sementes (PADDER *et al.*, 2017).

É historicamente considerada uma das doenças mais cosmopolitas da cultura do feijão. Além do dano quantitativo, a doença causa manchas e lesões nos grãos, depreciando a qualidade do produto. Dias nublados, com temperaturas moderadas e alta umidade relativa são favoráveis à ocorrência de infecção das plantas pelo fungo. Por isso, no Brasil, os registros mais frequentes da doença têm sido nos Estados da Região Centro-Sul e regiões serranas onde se cultiva feijão, apesar da doença ser incidente em todas as regiões do país (WENDLAND *et al.*, 2016).

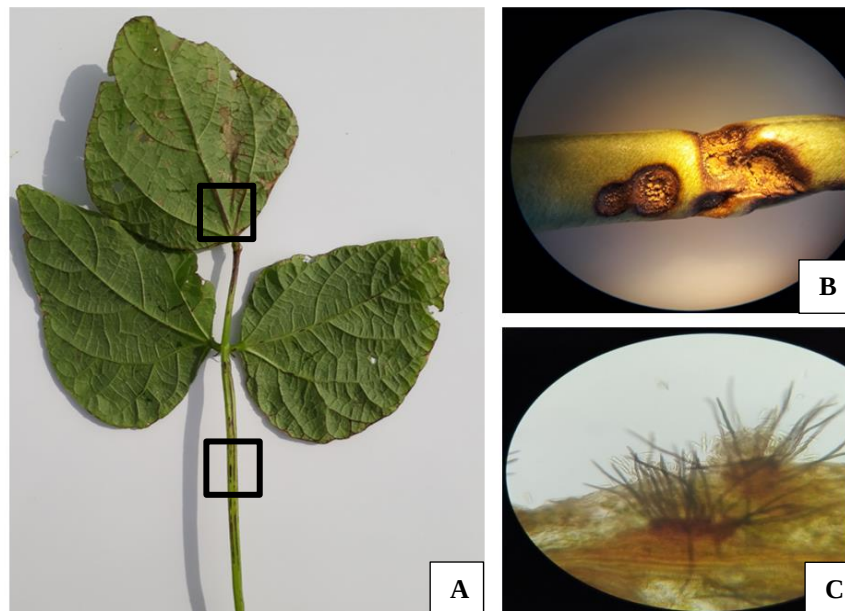
3.2.1 Sintomatologia

A antracnose pode ocorrer em qualquer fase de desenvolvimento da planta, mas é durante a fase de plântula que ocorre maior suscetibilidade ao patógeno, uma vez que os tecidos são pouco lignificados. As lesões podem ser observadas nos cotilédones, hipocótilo, folhas, caule, ramos, vagens e sementes, o que dependerá da intensidade da doença (CAMPA *et al.*, 2014).

No caule e no pecíolo, as lesões são deprimidas e escuras, podendo se aprofundar no tecido infectado. Os sintomas mais característicos são nas folhas (Figura 1A), que surgem na face abaxial com escurecimento ao longo das nervuras (WENDLAND *et al.*, 2016).

Lesões arredondadas, inicialmente de coloração marrom-clara, evoluindo para lesões deprimidas e escuras com o centro mais claro são observadas nas vagens (Figura 1B). Em vagens recém-formadas o excessivo número de lesões pode ocasionar enrugamento e encurtamento, levando-as à seca e queda. Quando as condições ambientais são favoráveis, desenvolve-se no centro das lesões uma massa rósea devido à produção de esporos do fungo (Figura 1C) (PAULA JÚNIOR *et al.*, 2015). Nas sementes ocorrem lesões necróticas circulares, pardo-escuras com bordos bem delimitados de coloração avermelhada e deprimidas (WENDLAND *et al.*, 2016).

FIGURA 1 - Sintomas de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em feijão (*Phaseolus vulgaris*). Sintomas nas nervuras dos folíolos e nos pecíolos (A); sintomas deprimidos nas vagens com massa rósea de esporos (B); acérvulo e esporos do fungo retirados das lesões presentes nas vagens (C). Ponta Grossa – PR, 2022.



Fonte: A autora.

3.2.2 Etiologia

O fungo *C. lindemuthianum* foi descrito pela primeira vez em 1889 e pertence ao reino Fungi, classe Deuteromycetes, ordem Melanconiales e família *Melanconiaceae*. Possui fase sexual denominada de *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld. & Schrenk., a qual raramente é encontrada na natureza e pertence à divisão Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Glomerellales e família *Glomerellaceae* (MYCOBANK, 2020).

O patógeno produz micélio hialino, septado e esporulação com coloração rosada. Os conídios são unicelulares, hialinos, geralmente cilíndricos e sua produção ocorre em conidióforos dentro de acérvulos septados, formando uma massa alaranjada e rosada. As setas

presentes nos acérvulos apresentam cor escura. A espécie tem grande variabilidade genética e patogênica e, no Brasil, já foram identificadas mais de 60 raças (WENDLAND *et al.*, 2016).

O fungo é considerado hemibiotrófico, ou seja, apresenta dois modos de nutrição intracelular, o biotrófico e o necrotrófico. Esses patógenos ingressam na planta como biotróficos, retirando nutrientes da célula hospedeira por meio de uma vesícula, estrutura muito semelhante ao haustório. Após o estabelecimento de relações parasitárias estáveis, o patógeno produz hifas secundárias que colonizam as células ao redor à infectada de forma necrotrófica (AMORIM; PASCHOLATI, 2018).

O início da infecção ocorre com a aderência do conídio à superfície da planta hospedeira, que em condições favoráveis, germina, produz o tubo germinativo e em seguida forma o apressório, com duração de 6 a 9 horas. Da base dos apressórios são emitidas as hifas de penetração que perfuram a cutícula e a parede celular da epiderme da planta. Também pode ocorrer a penetração por meio dos estômatos (O'CONNELL; BAILEY; RICHMOND, 1985).

A germinação dos conídios e a infecção dos tecidos é favorecida por temperaturas moderadas, em torno de 15-22°C e alta umidade relativa com a presença de água livre sobre o tecido da planta. Além de *P. vulgaris*, leguminosas como *Phaseolus lunatus* (L.), *Phaseolus acutifolius* (Gray), *Phaseolus coccineus* (L.), *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e *Vigna faba* (L.) também são hospedeiras de *C. lindemuthianum* (WENDLAND *et al.*, 2016).

A sobrevivência do fungo ocorre em sementes, restos culturais no solo e hospedeiros alternativos e são estes meios de sobrevivência que mantêm o inóculo primário da doença entre as épocas de semeadura. A disseminação primária e a longas distâncias ocorre pelas sementes, a disseminação secundária, a curtas distâncias, se dá pelo vento e respingos de água, seja chuva ou irrigação (SILVA; POZZA; MACHADO, 2013; SINGH; SCHWARTZ, 2010).

A antracnose está amplamente distribuída em todo território brasileiro, mas principalmente nos Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, onde são encontradas as condições ambientais favoráveis para sua ocorrência. O patógeno pode se disseminar intensamente a partir de plântulas jovens infectadas e proporcionar danos nas lavouras, além de comprometer a qualidade das sementes (PEREIRA *et al.*, 2018).

O uso de cultivares resistentes é uma alternativa muito importante que auxilia para a diminuição dos danos causados pelo patógeno, mas a ampla variabilidade patogênica do fungo *C. lindemuthianum* dificulta a obtenção de variedades com níveis de resistência duradouros (DIPIERO; GARDA, 2008). Todavia, algumas alternativas como o controle biológico e os métodos de controle alternativo são promissores e de grande importância para o manejo de fitopatógenos em várias culturas (DILDEY, 2017).

Medidas complementares como tratamento de sementes com fungicida, remoção dos restos culturais e rotação com culturas não hospedeiras, como por exemplo o milho, e a utilização de agentes de controle biológico, podem apresentar resultados satisfatórios para o controle da antracnose em plantas de feijão (WENDLAND *et al.*, 2016).

3.3 MANEJO DA ANTRACNOSE

Entre os principais métodos para controle da antracnose em feijão estão o controle químico e o uso de cultivares resistentes. Porém o controle químico com uso de fungicidas pode causar contaminação do solo, ambiental e humana, além da seleção de populações resistentes, enquanto a resistência das cultivares pode ser vencida por diferentes agentes patogênicos (GADAGA *et al.*, 2017).

A ampla variabilidade da espécie *C. lindemuthianum* está correlacionada ao fator limitante para o controle da antracnose em feijão. Ao todo, já foram identificadas aproximadamente 114 raças deste fungo no mundo. No Brasil há ocorrência de mais de 60 delas, sendo os patótipos mais frequentes identificados como 65, 73, 77, 81 e 87 (PAULA JÚNIOR *et al.*, 2015).

Xavier *et al.* (2020) citam que no Estado do Paraná já foram identificadas 63 raças de *C. lindemuthianum*, sendo elas 0, 1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11, 17, 25, 26, 27, 31, 52, 55, 64, 65, 67, 69, 72, 73, 75, 77, 79, 81, 82, 83, 85, 87, 89, 90, 91, 93, 95, 96, 97, 101, 102, 105, 109, 123, 127, 137, 193, 249, 259, 283, 287, 320, 321, 337, 339, 342, 343, 346, 351, 453, 457, 465 e 585. Além do mais, os autores citam no trabalho o primeiro relato da raça 24 no Estado e da raça 345 no mundo.

No município de Ponta Grossa já foram identificadas as raças 1, 9, 17, 25, 27, 72, 73, 81, 89, 95, 339 e 345 (CARNEIRO *et al.*, 1999; DARTIBALE *et al.*, 2016; NUNES, 2013; OLIVEIRA; CARNEIRO; ROMANO, 2014) e em Prudentópolis, as raças já identificadas são 31, 64, 91 e 346 (MOURA *et al.*, 2016; UCHÔA *et al.*, 2015).

O manejo integrado de doenças (MID) é um sistema no qual várias estratégias de controle são utilizadas em sequência ou em épocas mais adequadas, de maneira que haja menores prejuízos para o homem e o ambiente, colaborando com o controle natural. Deve ocorrer a mínima interferência entre os métodos empregados, sendo interessante o efeito aditivo ou sinérgico, em que cada medida de controle reforce as demais (GHINI, 2009).

O emprego de novas alternativas para o controle de doenças em plantas pode ser uma possibilidade ao tradicional uso de fungicidas e pode colaborar para uma agricultura mais

moderna e sustentável, com intuito de proteger as plantas e conservar um sistema de defesas contra doenças menos dependente dos produtos fitossanitários (BORSATO; DI PIERO; STADNIK, 2010). Entre as possibilidades de alternativas de controle está o controle biológico e a indução de mecanismos de defesa existentes nas plantas (GABARDO *et al.*, 2022; LES *et al.*, 2020; POZZA JUNIOR *et al.*, 2021).

Apesar disso, apenas a troca de um produto químico por um biológico não é a situação adequada, mas sim desenvolver sistemas de cultivo mais sustentáveis e, conseqüentemente, menos dependentes do uso de agrotóxicos (MORANDI; BETTIOL, 2009). O conceito de agricultura sustentável abrange um sistema integrado de práticas para produção de alimentos com objetivo a longo prazo de melhorar a qualidade ambiental e a base de recursos naturais, proporcionando uso mais eficiente de recursos não renováveis e integrar controles biológicos naturais (SILVA *et al.*, 2020).

A integração de métodos diferentes de controle de doenças em plantas compõe uma alternativa com maiores chances de sucesso do que o uso de um único método. Por exemplo, o uso exclusivo e contínuo de um fungicida específico para controlar uma doença específica, certamente levará à seleção de linhagens resistentes do patógeno, reduzindo a eficiência de controle (GHINI, 2009).

A análise dos resultados alcançados com o uso do controle biológico leva à conclusão de que, em alguns casos, somente controle parcial da doença é atingido. Isso deve-se a dependência constante desse método por diversos fatores de origem biótica e abiótica. O controle biológico deve ser considerado um importante complemento para outras medidas de controle, como por exemplo, em culturas nas quais o controle químico já não possui eficiência satisfatória (HENIS; CHET, 1975; LANDERS; OLIVEIRA, 2018).

Desta forma, uma das possibilidades do controle biológico é a indução de mecanismos de defesa existentes nas plantas com o uso de fungos sapróbios (SHARMA *et al.*, 2017).

3.3.1 Indução de Resistência

Cada espécie de planta é afetada por aproximadamente 100 diferentes tipos de fungos, bactérias, mollicutes, vírus e nematoides. Embora essas plantas possam ter danos em maior ou menor extensão, muitas sobrevivem a todos esses ataques e conseguem crescer bem e produzir bons rendimentos. Em geral, as plantas se defendem sozinhas contra patógenos com uma combinação de processos estruturais e bioquímicos (AGRIOS, 2005a).

As plantas superiores não possuem um sistema imunológico como o dos animais, mas elas são favorecidas de um sistema inato de defesas contra os patógenos, que é constituído por um aparato estrutural e bioquímico que garante sua proteção (CAVALCANTI; PEREIRA; RIBEIRO JÚNIOR, 2014). Elas estão aptas a se auto proteger, utilizando um complexo conjunto de mecanismos que abrange sinais que começam no reconhecimento do agente patogênico, desencadeando em reprogramação metabólica que resulta em resposta de defesa (STANGARLIN *et al.*, 2011).

Por via de sinalização, as plantas possuem a capacidade de identificar danos em seus tecidos, órgãos e com isso podem aumentar seu nível de resistência em resposta a sinais que apontam a presença de inimigos em ambiente de maneira imediata (NIRANJAN RAJ *et al.*, 2012; WALTERS; FOUNTAINE, 2009).

A primeira linha de defesa de uma planta contra patógenos é a sua superfície, local onde o microrganismo deve penetrar para causar a infecção (AGRIOS, 2005a). O início de toda essa complexidade funcional, espacial e temporal se dá com o reconhecimento pelo hospedeiro de sinais exógenos provenientes do patógeno ou de elicitores anteriormente aplicados na planta. Esse reconhecimento tem continuidade com mecanismos de transdução desses sinais e resulta em vasta reprogramação do metabolismo celular (WALTERS *et al.*, 2005).

A resistência do hospedeiro a um microrganismo patogênico é definida, sob a perspectiva fisiológica, como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente atividade do patógeno em seus tecidos. O sistema de defesa vegetal é multicomponente, agindo de forma dinâmica e coordenada, no momento e local propícios e com magnitude apropriada (GOODMAN; KIRÁLY; WOOD, 1986).

Algumas estruturas citológicas, como a parede celular, compõem obstáculos à infecção por fungos, executando importante papel na resistência a doenças. Da mesma maneira, alguns metabólitos, tóxicos ou parcialmente tóxicos, podem ser sintetizados ou modificados no tecido vegetal com o início do processo infeccioso (AHUJA; KISSEN; BONES, 2012; MA; YAMAJI, 2006). Os mecanismos que conferem resistência aos fitopatógenos, podem ser fomentados por estímulos químicos e são reconhecidos como indução de resistência nas plantas (GONTIJO NETO *et al.*, 2016).

Assim fica evidente que a partir da infecção por um agente patogênico, as plantas suscetíveis podem desencadear aumento na resistência e apresentam respostas eficazes que retardam ou impedem a ação dos agentes patogênicos (LLORENS; GARCÍA-AGUSTÍN; LAPEÑA, 2017). Esse fenômeno é conhecido como resistência induzida e pode ser de dois tipos: resistência sistêmica adquirida ou SAR (do inglês – *systemic acquired resistance*) e a

resistência sistêmica induzida ou IRS (do inglês - *induced systemic resistance*) (CHOUDHARY; PRAKASH; JOHRI, 2007).

A resistência sistêmica adquirida diz respeito à forma de resistência ativada na planta que depende da via de sinalização do ácido salicílico. Ela é gerada após a exposição à microrganismos patogênicos, não patogênicos ou estímulos químicos artificiais, como quitosana, ácido salicílico, fosfitos, entre outros (PASCHOLATI; DALIO, 2018; WALTERS; RATSEP; HAVIS, 2013).

Por outro lado, a resistência sistêmica induzida é dependente das vias de sinalização do ácido jasmônico e etileno, não levando em conta a síntese de proteínas-RP. É caracterizada como resistência de amplo espectro, atua contra vários tipos de patógenos e estresses abióticos (O'BRIEN, 2017).

A resistência induzida explora as defesas naturais das plantas e pode ser proposta como uma abordagem alternativa, não convencional e com base ecológica para a proteção de plantas. A introdução, disseminação e uso na agricultura pode reduzir o uso do controle químico de doenças, contribuindo para que uma agricultura sustentável seja desenvolvida (EDREVA, 2004).

A ativação de genes resulta em produtos que proporcionam alterações metabólicas associadas com a síntese de proteínas-RP, como as enzimas peroxidases, polifenoloxidase, β -1,3-glucanases e quitinases, ou com alterações no padrão de algumas enzimas das células, como fenilalanina amônia-liase, o que permite a planta responder adequadamente aos estresses bióticos (DINIZ, 2009; JUSTYNA; EWA, 2013).

As respostas inicialmente acontecem nas células circundantes ao local de infecção, com a produção de EROs, reação de hipersensibilidade (RH), síntese de metabólitos secundários (fitoalexinas, fenóis e antocianinas), acompanhadas pela formação de barreiras estruturais, como mudanças na composição da parede celular, formação de papilas e halos, lignificação, camadas de cortiça e tilose, o que impede o desenvolvimento do patógeno na planta (HEIL; BOSTOCK, 2002; NIRANJAN RAJ *et al.*, 2012; STANGARLIN *et al.*, 2011).

As fitoalexinas são consideradas as principais características de resposta local juntamente com as proteínas-RP que ocorrem tanto local quanto sistemicamente (HEIL; BOSTOCK, 2002). A partir do local da indução, um sinal pode ser liberado e ser distribuído por toda a planta, de forma sistêmica pelo floema aos órgãos não afetados (DINIZ, 2009).

A indução de resistência nas plantas desencadeia o aumento do nível de resistência mediante uso de agentes externos, não ocasionando qualquer alteração no genoma da planta (STADNIK, 2000). Esse aumento no nível de resistência ocorre de forma não específica, pela

ativação de genes que codificam para diversas respostas de defesa na planta, como proteínas relacionadas à patogênese (proteínas PR – quitinases e glucanases), enzimas na rota de síntese de fitoalexinas (fenilalanina amônia-liase), acúmulo de lignina em tecidos circunvizinhos ao local de penetração dos microrganismos, entre outros (CAVALCANTI *et al.*, 2005).

As moléculas aplicadas nas plantas que são capazes de desencadear qualquer resposta de defesa nas plantas são chamados de elicitores, podendo ser de origem biótica ou abiótica (SMITH, 1996). As moléculas elicitoras possuem natureza variada, compreendendo glicoproteínas, peptídeos, glicolipídeos e oligossacarídeos presentes em fragmentos de parede celular, os quais podem ser encontrados em extratos de tecido vegetal lesionado ou em filtrados fúngicos (BOLLER; FELIX, 2009; CAVALCANTI *et al.*, 2007).

3.3.1.1 O gênero *Trichoderma*

Os fungos são organismos cosmopolitas estando presentes em diversos ambientes como os terrestres e os aquáticos, além de apresentarem grande variedade de modos de vida, sendo a maior parte desses microrganismos considerados sapróbios (ALEXOPOULUS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Para ser considerado sapróbio um fungo deve apresentar a capacidade de obter alimento a partir da matéria orgânica morta e atuar na sua decomposição. Esses microrganismos são caracterizados pela sua rusticidade permitindo sua adaptação às condições ambientais (BARBOSA; MAIA; GUSMÃO, 2009). Estes são representantes assexuais do filo Ascomycota e considera-se como fungo sapróbio apenas espécies decompositoras de material vegetal morto e que não causem doenças ou injúrias nas plantas (PEITL *et al.*, 2017).

Os fungos sapróbios apresentam características que os tornam propícios para uso no controle biológico de doenças, por apresentarem resistência hídrica, capacidade de retirar nutrientes da matéria orgânica do solo e boa competitividade. Entre os mecanismos de ação listados pode-se citar a produção de compostos voláteis e a indução de mecanismos de defesas nas plantas (CHAURASIA *et al.*, 2005; TARKKA; PIECHULLA, 2007; WEBSTER; WEBER, 2007).

Dentre os fungos sapróbios mais estudados em todo o mundo estão as espécies do gênero *Trichoderma*, os quais são habitantes muito comuns do solo e exercem antagonismo a vários microrganismos fitopatogênicos (MASSOLA JÚNIOR, 2018).

Representantes do gênero *Trichoderma* têm longa história, sendo relatados e descritos pela primeira vez em 1794 (PERSOON, 1794). No início, foi proposto que haveria apenas uma

espécie dentro do gênero, a *Trichoderma viride* (Pers.) e o primeiro protocolo para identificação de espécies foi estabelecido apenas em 1969 (RIFAI, 1969).

Trichoderma é um gênero fúngico de reprodução assexuada frequentemente encontrado no solo. Quase todos os solos de regiões temperadas e tropicais do mundo possuem de 101-103 propágulos do fungo por grama de solo, que podem ser cultivados em condições laboratoriais padrão (WAGHUNDE; SHELAK; SABALPARA, 2016). Essas espécies podem colonizar plantas lenhosas e herbáceas, nas quais a fase sexual (gênero *Hypocrea*) foi observado, porém, a maioria das espécies utilizadas para biocontrole não possuem fases sexuais (SCHUSTER; SCHMOLL, 2010).

O gênero *Trichoderma* pertence na fase sexual a classe Sordariomycetes do filo Ascomycota. Nas espécies onde a fase sexual é conhecida, esta é descrita pela produção de corpos de frutificação do tipo peritécio, formados em estromas com cor verde, amarelo, creme ou marrom, produzidos sobre o substrato colonizado. Nos peritécios são produzidos ascos cilíndricos com oito ascósporos bicelulares, que se segmentam em 16 esporos esverdeados ou hialinos (JAKLITSCH, 2009).

Na fase assexual, a partir do micélio vegetativo são formados conidióforos com um eixo central e ramificações laterais, que terminam em espirais divergentes de células conidiogênicas do tipo fiálide, com formato alongado ou de garrafa. Na extremidade das fiálides são produzidos os conídios unicelulares típicos, esféricos, ovais ou alongados, com predominância da cor verde entre as espécies. Os conidióforos são frequentemente agregados em pústulas ou “tufos” espalhados pela colônia (JAKLITSCH; VOGLMAY, 2015).

Na natureza, as formas vegetativas desses fungos persistem como clonais, muitas vezes heterocarióticas, individualmente e em populações que provavelmente evoluem separadamente no estágio assexuado. Estes fungos são invasores oportunistas fortes, produtores de esporos prolíficos e de crescimento rápido. São produtores de antibióticos poderosos, mesmo estando em ambiente altamente competitivo por espaço, nutriente e luz (MONTERO-BARRIENTOS *et al.*, 2011).

Mais de 250 espécies de *Trichoderma* são aceitas e identificadas com uso de filogenia molecular. Grande maioria dessas espécies não é habitante do solo ou têm ampla distribuição geográfica, mas possui restrita distribuição e é formada por parasitas de fungos macroscópicos e decompositores de tecidos lignificados em florestas tropicais e temperadas (DRUZHININA *et al.*, 2011). Isso demonstra que a capacidade de parasitar outros fungos e se nutrir da biomassa morta é uma característica ancestral do gênero, compartilhada pela maioria das espécies (KUBICEK *et al.*, 2011).

As espécies de *Trichoderma* ditas como oportunistas ambientais são caracterizadas por alguns fenótipos em comum, como ampla distribuição geográfica, rápido crescimento e agressiva colonização de nichos no solo e na rizosfera, alta habilidade de predação ou parasitar outros fungos e, como acontece com várias espécies, aptidão para estabelecer interações benéficas com plantas, ocasionando em promoção de crescimento e indução de resistência a doenças (DE ABREU; PFENNING, 2019).

O uso de *Trichoderma* spp. na agricultura é recente, em vista à sua descoberta, por ter capacidade em produzir antibióticos que inibem o crescimento de microrganismos patogênicos e são utilizados como agentes de biocontrole (HARMAN, 2006). As formas de ação dos isolados de *Trichoderma* sobre agentes patogênicos são: antibiose, hiperparasitismo, competição e indução de defesas na planta hospedeira (MACHADO *et al.*, 2012).

Os estudos que envolvem a interação planta-*Trichoderma*, além de seu uso como bioestimulante, tem como enfoque o controle de doenças, uma vez que as espécies desse fungo podem inibir o crescimento ou impedir o estabelecimento de patógenos na planta hospedeira (KUMAR *et al.*, 2017). Em relação a isso, *Trichoderma* spp. podem viver de forma saprófita, colonizar raízes de plantas ou até outros fungos de solo (MACHADO *et al.*, 2012).

O primeiro relato de indução de resistência sistêmica mediada com o uso de *Trichoderma* data do ano de 1993, em videira por Calderón *et al.* (1993). Em 1998, De Meyer *et al.* (1998) demonstraram que houve indução de resistência nas culturas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), fumo (*Nicotiana tabacum* L.), feijão, pimentão (*Capsicum annuum* L.) e alface (*Lactuca sativa* L.) após aplicação de *Trichoderma harzianum* (Rifai) (isolado T39), para controle de *Botrytis cinerea* (Pers.). Mesmo estando espacialmente distante do patógeno, a utilização desse agente de biocontrole provocou reduções de 25 – 100% nos sintomas da doença.

Os isolados de *Trichoderma* spp. podem produzir mais de 100 tipos de compostos bioativos, como enzimas degradadoras de parede celular, antibióticos e outras substâncias ainda não caracterizadas, que apresentam atividade antifúngica ou podem atuar como elicitores de respostas de defesa nas plantas (PEDRO *et al.*, 2012). Assim, esses fungos não atuam apenas como antagonistas dos patógenos das plantas, mas também induzem mecanismos de defesas que resultam em modificações bioquímicas e estruturais nas plantas, resultando em proteção contra os patógenos (SABA *et al.* 2012).

Quando o fungo entra em contato com a raiz, as plantas são induzidas a produzir eliciadores o que leva ao aumento na expressão de genes relacionados à defesa, levando a

expressão de mecanismos de defesa latentes e, conseqüentemente, sua ação sobre os agentes patogênicos (BROTMAN *et al.*, 2013; DRUZHININA *et al.*, 2011).

A ativação de mecanismos de defesa que são induzidos por espécies de *Trichoderma* é dependente das vias do ácido jasmônico/etileno e do ácido salicílico (SINGH *et al.*, 2018). Quando a planta é colonizada por *Trichoderma* spp. há uma regulação positiva de longa duração nos genes via ácido salicílico. No entanto, quando desafiadas pelo agente patogênico, o pré-tratamento com *Trichoderma* pode modular a expressão gênica que depende do ácido salicílico e em seguida ativar a expressão dos genes induzidos pela via do ácido jasmônico, tornando a resposta induzida sistêmica que aumenta com o tempo (HERMOSA *et al.*, 2012).

Com o passar dos anos, estudos que demonstram a indução de resistência sistêmica elicitada por espécies de *Trichoderma* foram realizados nas mais variadas culturas agrícolas em todo o mundo contra diversos patógenos (BISEN *et al.*, 2016; CHRISTMANN *et al.*, 2019; DILDEY, 2017; FIGUEIRA *et al.*, 2020; HENNIPMAN *et al.*, 2019).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nas instalações da Universidade Estadual de Ponta Grossa e conduzidos em laboratório, casa de vegetação e a campo, na Fazenda Experimental Capão da Onça (Ponta Grossa – PR), e nas localidades Unidade Demonstrativa Experimental Oscar Rickli (Prudentópolis – PR) e na Fazenda Xaxim (Teixeira Soares – PR).

4.1 EXPERIMENTOS EM CASA DE VEGETAÇÃO

4.1.1 Avaliação da severidade

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e repetidos duas vezes. O primeiro experimento teve início no dia 25 de setembro e final em 28 de novembro de 2019. O segundo experimento teve início dia 21 de janeiro e final em 27 de março de 2021.

Para realização dos experimentos foram utilizadas duas cultivares. A cultivar IPR Tuiuiú pertencente ao grupo preto, com hábito de crescimento indeterminado tipo II e porte ereto, favorecendo a colheita mecânica direta. É considerada como resistente a murcha de Fusarium [*Fusarium oxysporum* f. sp. *solani* (Kendrick & Snyder)] e ao mosaico comum (*Bean common mosaic virus* – BCMV) e moderadamente resistente a ferrugem [*Uromyces appendiculatus* (Pers.)], mancha angular [*Pseudocercospora griseola* Sacc. (Crous & Braun)] e oídio (*Oidium* sp.). É moderadamente suscetível a murcha de *Curtobacterium* [*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges.)], suscetível a antracnose e ao crestamento bacteriano comum [*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xapf.)]. O ciclo médio é de 88 dias e seu potencial de rendimento é em torno de 3.950 kg ha⁻¹ (IAPAR, 2020).

A cultivar IPR Quero-Quero pertence ao grupo carioca, com hábito de crescimento indeterminado, porte semiereto e ciclo médio de 89 dias. É considerada como moderadamente resistente à antracnose, ao crestamento bacteriano comum e à mancha angular e resistente ao oídio e à murcha de *Curtobacterium* (IAPAR, 2013).

Os experimentos tiveram início com a semeadura de cinco sementes por vaso com capacidade de três litros de volume em substrato comercial e adubação suplementar com MAP (mono amônio fosfato) na dose de 21 mg por vaso. Após a emergência, foram mantidas as duas plantas mais vigorosas em cada vaso. O delineamento experimental utilizado foi de blocos aleatorizados, com 10 tratamentos e 5 repetições, sendo um vaso com duas plantas considerado uma repetição.

Os produtos dos respectivos tratamentos (Tabela 1) foram pulverizados quando as plantas atingiram o estágio vegetativo V3 (primeiro trifólio desenvolvido) (OLIVEIRA *et al.*, 2018). A aplicação ocorreu apenas no primeiro trifólio, com o segundo trifólio (em desenvolvimento) protegido com um copo plástico, com finalidade de evitar contato com o tratamento aplicado. Para todos os tratamentos foi realizada aplicação única com 20 mL de calda em cada planta com auxílio de um pulverizador manual.

Para a realização desse estudo foram cedidas cinco espécies de *Trichoderma* pela empresa Innova®: *Trichoderma asperellum* (Samuels, Lieckf. & Nirenberg), *Trichoderma endophyticum* (Rocha, Samuels & Chaverri), *T. harzianum*, *Trichoderma lentiforme* (Rehm) Chaverri, Samuels & Rocha e *Trichoderma koningiopsis* (Samuels, Suárez & Evans). Essas espécies foram disponibilizadas com formulação em pó, os quais dispensaram cultivo prévio em meio de cultura.

As espécies *Trichoderma tomentosum* (Bissett) e *T. viride* foram isoladas de plantas daninhas (*Brachiara plataginea* (Link) Hitchc., *Rumex obtusifolius* L., *Sida rhombifolia* L., *Euphorbia heterophylla* L.) por Pittner (2017), no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Centro Oeste (UNICENTRO), Campus Guarapuava – PR e foram cedidos para o desenvolvimento dessa pesquisa. Esses isolados foram previamente cultivados em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), em tubos de ensaio que foram mantidos durante cinco dias em temperatura de 25°C em câmara de crescimento tipo BOD.

TABELA 1 - Produtos pulverizados em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) cultivadas em casa de vegetação com respectivas doses para controle de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	COMPOSIÇÃO	DOSE
<i>Trichoderma asperellum</i>	Conídios	10 ⁶ conídios mL ⁻¹
<i>Trichoderma endophyticum</i>	Conídios	10 ⁶ conídios mL ⁻¹
<i>Trichoderma harzianum</i>	Conídios	10 ⁶ conídios mL ⁻¹
<i>Trichoderma lentiforme</i>	Conídios	10 ⁶ conídios mL ⁻¹
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	Conídios	10 ⁶ conídios mL ⁻¹
<i>Trichoderma tomentosum</i>	Conídios	10 ⁶ conídios mL ⁻¹
<i>Trichoderma viride</i>	Conídios	10 ⁶ conídios mL ⁻¹
Bion®	Acibenzolar-S-metílico (ASM)	25 g p.c ha ⁻¹
Mertin®	Hidróxido de fentina	500 mL p.c ha ⁻¹
Controle	Água destilada e esterilizada	-

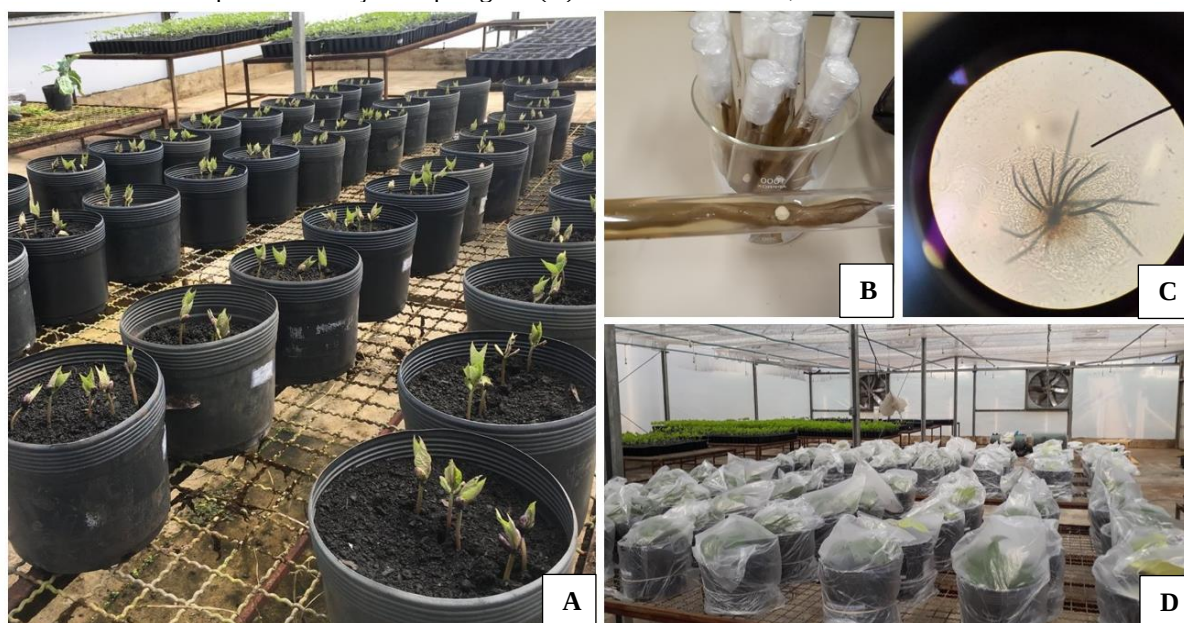
Fonte: ADAPAR (2020).

Para a produção do inóculo de *C. lindemuthianum* discos com micélio previamente cultivado em meio BDA, com 5 mm de diâmetro, foram acomodados na superfície de vagens de feijão previamente esterilizadas em autoclave a 121°C, por 30 minutos, cujas bases foram inseridas em meio ágar-água 2% em tubos de ensaio (DALLA PRIA *et al.*, 1997). Após

repicagem os tubos foram colocados em câmara tipo BOD com temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2$, no escuro por 10 dias.

A inoculação das plantas com *C. lindemuthianum* foi realizada três dias após a aplicação dos tratamentos. Após o crescimento do patógeno foi adicionada água destilada e esterilizada aos tubos para a obtenção da suspensão de conídios. A suspensão foi filtrada em gaze dupla e a concentração ajustada para 10^6 conídios mL^{-1} com auxílio da câmara de Neubauer. A suspensão foi pulverizada sobre as plantas num todo com pulverizador manual e os vasos foram alocados dentro de sacos plásticos transparentes umedecidos e mantidos em temperatura ambiente por 48 horas, como descrito por Stangarlin e Pascholati (2000) (Figura 2).

FIGURA 2 - Plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) cultivadas em casa de vegetação para aplicação dos tratamentos e proteção contra *Colletotrichum lindemuthianum*. Plantas após a emergência (A); meio vagem para cultivo do inóculo (B); acérvulo e esporos do fungo produzidos no meio vagem (C); plantas em câmara úmida após a inoculação do patógeno (D). Ponta Grossa – PR, 2022.



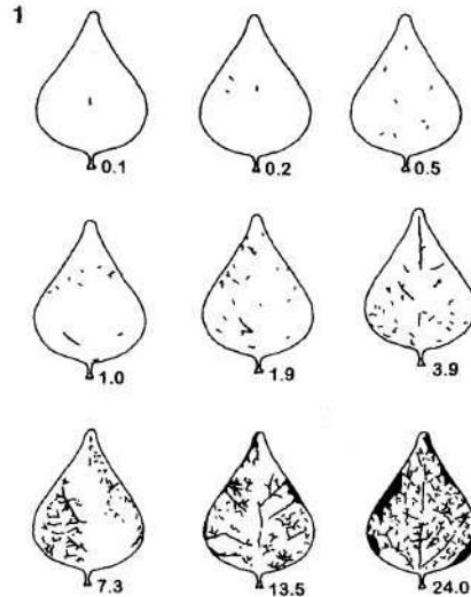
Fonte: A autora.

A avaliação da severidade da antracnose teve início com o aparecimento dos primeiros sintomas nas folhas e foi realizada com auxílio da escala diagramática proposta por Godoy *et al.* (1996) (Figura 3), com intervalo de cinco dias. As avaliações foram realizadas nas folhas cotiledonares até o quarto trifólio, totalizando sete avaliações. Com os valores médios de severidade foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), com a fórmula proposta por Shaner e Finney (1977).

$$AACPD = \sum_{i=1}^n \left[\left(\frac{y_{i+n_1} + y_i}{2} \right) * (t + t_i) \right]$$

Na qual y_{i+n_1} e y_i são duas avaliações consecutivas realizadas nos tempos t e t_i , com n igual ao número total de avaliações.

FIGURA 3 - Escala diagramática de severidade da antracnose em feijão (*Phaseolus vulgaris*) causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (porcentagem de área foliar coberta por sintomas).



Fonte: Godoy *et al.* (1996).

Os valores de AACPD foram submetidos à análise de variância e as médias, quando significativas, comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com auxílio do software SASM-Agri (CANTERI *et al.*, 2001).

4.1.2 Tratamento de sementes

Os experimentos foram realizados duas vezes para cada cultivar. Para a cultivar IPR Tuiuiú, o primeiro experimento ocorreu de 04 a 19 de dezembro de 2019 e o segundo experimento de 27 de dezembro de 2019 a 09 de janeiro de 2020. Para a cultivar IPR Quero-Quero, o primeiro experimento ocorreu de 15 a 30 de janeiro de 2020 e o segundo experimento de 27 de fevereiro a 13 de março de 2020.

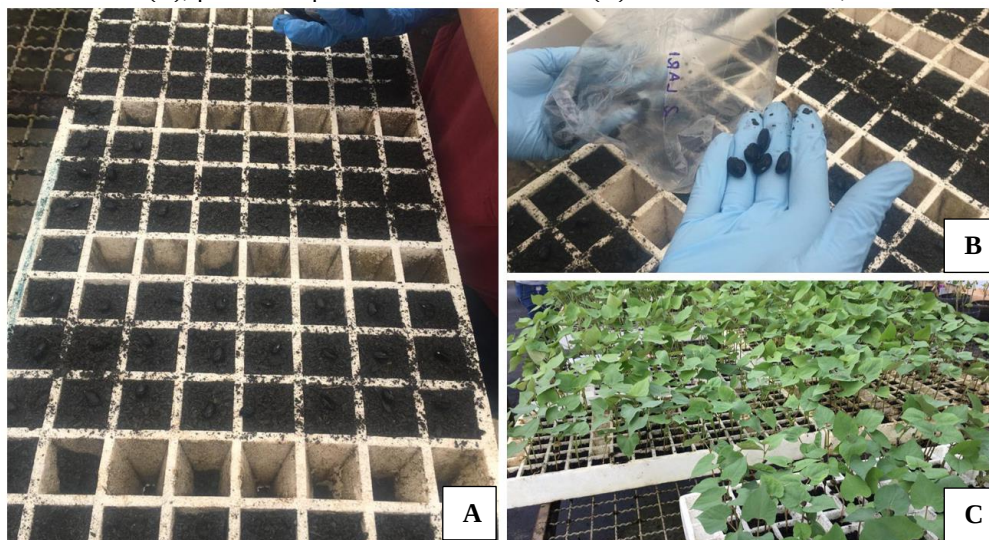
As sementes foram previamente inoculadas com *C. lindemuthianum*, pela sobreposição nas colônias do patógeno cultivado por 15 dias em placas de Petri com meio BDA. Foram acomodadas 50 sementes em cada placa para cada cultivar, as quais foram incubadas em câmara tipo BOD, com temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 1$.

Após 24 horas, as sementes foram tratadas com suspensão de esporos preparada para cada espécie de *Trichoderma* (Tabela 1), o indutor de resistência acibenzolar-S-metílico (Bion[®]) e com o fungicida específico para tratamento de sementes metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil (Maxim Advanced[®]), seguindo as doses recomendadas em bula (ADAPAR, 2020).

As sementes foram acondicionadas em sacos plásticos com 5 mL de água destilada e esterilizada junto com cada tratamento, que em seguida foram agitados para que houvesse completa distribuição sobre as mesmas.

Para o teste de transmissibilidade foram utilizadas 100 sementes para cada tratamento, divididas em quatro repetições de 25 sementes. As sementes foram semeadas em bandejas de polipropileno de 128 células, com substrato comercial, na qual foi colocada uma semente por célula. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação, com irrigação diária e 15 dias após a semeadura, foram avaliadas as sementes germinadas e não germinadas, bem como as plântulas sintomáticas e sadias com dados expressos em porcentagem (Figura 4).

FIGURA 4 - Experimento de tratamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) após inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*. Bandeja com substrato (A); semeadura das sementes inoculadas e tratadas (B); plântulas após 15 dias da semeadura (C). Ponta Grossa – PR, 2022.



Fonte: A autora.

Em adição aos estudos realizados em casa de vegetação, foi realizado o teste de patologia pelo método de incubação em rolo de papel (MAPA, 2009) para avaliar a transmissibilidade de *C. lindemuthianum* para as sementes de feijão em condições de laboratório. As sementes foram inoculadas e o tratamento destas foi realizado conforme metodologia descrita anteriormente.

Após o tratamento, as sementes foram dispostas individualmente sobre duas folhas de papel para teste de germinação (28 x 38 cm), esterilizadas e umedecidas com água destilada e esterilizada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. Ao fim da distribuição das sementes, uma terceira folha foi utilizada para cobri-las e formar um rolo, o qual foi fechado com elástico. Os rolos foram incubados em câmara para germinação, com atmosfera próxima à saturação, temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ no escuro por 7 dias. Foram utilizadas 200 sementes para cada tratamento, divididas em quatro repetições de 50.

A avaliação foi realizada examinando-se individualmente todas as sementes, com a retirada de seu respectivo tegumento e contabilizando as sementes que possuíam sintomas típicos da infecção de *C. lindemuthianum* (MAPA, 2009). A identificação foi feita a olho nu com auxílio de uma pinça e a incidência foi expressa em porcentagem. O delineamento experimental foi inteiramente aleatorizado, com 10 tratamentos e 4 repetições, sendo cada rolo com 50 sementes considerado uma repetição.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias quando significativas foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os dados foram transformados em $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$ e as análises foram feitas com auxílio do software estatístico SASM-Agri (CANTERI *et al.*, 2001).

4.2 EXPERIMENTO EM FOLHA DESTACADA

O experimento em folha destacada teve início no dia 24 de setembro de 2020 com a semeadura em casa de vegetação e final no dia 18 de novembro de 2020. Cinco sementes das cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero foram semeadas em cada vaso plástico com capacidade de três litros de volume com substrato comercial, os quais foram mantidos em casa de vegetação até o estágio vegetativo V3 (segundo trifólio aberto).

Os trifólios foram destacados das plantas com auxílio de tesoura desinfetada e acomodadas em sacos plásticos que foram mantidos em caixa térmica com gelo. Após, eles foram levados ao laboratório onde houve a pulverização dos tratamentos em metade da sua superfície (lado esquerdo de cada folíolo) até o ponto de molhamento com os produtos (Tabela 1).

Após a aplicação dos tratamentos, os trifólios foram acondicionados em caixas tipo gerbox, previamente desinfestadas com hipoclorito de sódio a 5%, contendo três folhas de papel filtro esterilizado, umedecidos com 20 mL de água destilada e esterilizada. Sobre as folhas de

papel foram acondicionadas duas lâminas de microscopia para evitar o contato direto da folha com o papel úmido.

No pecíolo do trifólio foi acondicionado uma porção de algodão umedecido com água destilada e esterilizada, a fim de garantir que o trifólio permanecesse vivo durante o experimento, conforme Reis e Kimati (1974) citado por Kamikoga (2002) (Figura 5). As caixas com os trifólios foram mantidas em câmara tipo BOD com temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ e fotoperíodo de 12 horas, durante todo o experimento.

Após 72 horas da aplicação dos tratamentos, foi realizada a inoculação com suspensão de esporos de *C. lindemuthianum* ($3,2 \times 10^6$ conídios mL^{-1}), previamente cultivado em meio tipo vagem (DALLA PRIA *et al.*, 1997), em toda a superfície do trifólio. A reaplicação dos tratamentos foi realizada 72 horas após a inoculação do patógeno na mesma metade onde foi aplicado anteriormente.

A severidade da antracnose foi avaliada com auxílio da escala diagramática proposta por Godoy *et al.* (1996) (Figura 3), com intervalo de dois dias por período de 24 dias. O delineamento experimental foi inteiramente aleatorizado, com 10 tratamentos e 5 repetições, sendo cada caixa gerbox com um trifólio considerada uma repetição.

FIGURA 5 - Trifólio de feijão (*Phaseolus vulgaris*) utilizado no teste de folha destacada com aplicação dos tratamentos (lado esquerdo) e sem aplicação dos tratamentos (lado direito) para controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). Ponta Grossa – PR, 2022.



Fonte: A autora.

Ao fim do experimento foi calculada a AACPD (SHANER; FINNEY, 1977) para cada lado do folíolo. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias quando significativas comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com auxílio do software estatístico SASM-Agri (CANTERI *et al.*, 2001).

4.3 EXPERIMENTOS EM CAMPO

Os experimentos a campo foram conduzidos em três localidades: Fazenda Escola Capão da Onça (FESCON), município de Ponta Grossa – PR, localizada em latitude S25°5'49", longitude O50°3'11" e altitude de 1.025 m acima do nível do mar; Unidade Demonstrativa Experimental (UDE) Oscar Rickli, município de Prudentópolis – PR, pertencente à Cooperativa Agrícola Mista Prudentópolis (CAMP), localizada em latitude S25°11'14.7", longitude O51°00'14.5" e altitude de 782 m acima do nível do mar e na Fazenda Xaxim, município de Teixeira Soares – PR, localizada em latitude S25°19'07", longitude O50°18'15" e altitude de 840 m acima do nível do mar.

O clima predominante nas regiões de cultivo, segundo o sistema de classificação de Köppen é tipo Cfb, com verões frescos e ocorrência de geadas frequentes durante o inverno, sem estação seca definida. A temperatura máxima e mínima é de 22 e 13°C, respectivamente, com precipitação anual de 1.600 a 1.800 mm. Os meses mais secos são junho, julho e agosto, com média de 75 a 125. Estes meses são considerados os mais frios com médias de 13 a 14°C (IAPAR, 2020).

Os experimentos na FESCON foram conduzidos em três safras consecutivas e com duas cultivares (IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero). A semeadura na primeira safra (2019/2020) ocorreu no dia 04 de novembro de 2019, na segunda safra (2020/2021) no dia 09 de novembro de 2020 e na terceira safra (2021/2022) no dia 17 de novembro de 2021, todas em sistema de semeadura direta na palha. O espaçamento entre linhas utilizado foi 0,45 m e população de 15 plantas m⁻¹, resultando numa população de 300.000 plantas ha⁻¹. A emergência das plantas foi observada sete dias após a semeadura nas três safras.

A semeadura na UDE Oscar Rickli, município de Prudentópolis, ocorreu em sistema de semeadura direta na palha no dia 15 de fevereiro de 2020, com a cultivar IPR Tuiuiú, espaçamento entre linhas de 0,45 m e população de 11 plantas m⁻¹, resultando numa população média de 245.000 plantas ha⁻¹. A emergência das plantas foi observada oito dias após a semeadura.

Na Fazenda Xaxim, município de Teixeira Soares, foram duas épocas de semeadura com a cultivar IPR Tuiuiú, com a primeira em 04 de setembro de 2020 e a segunda época em 12 de janeiro de 2021. O espaçamento entre linhas foi de 0,45 m e com 15 plantas m^{-1} de população, resultando numa população de 300.000 plantas ha^{-1} . A emergência das plantas foi observada sete dias após a semeadura nas duas épocas de semeadura.

Em todas as áreas e safras, o delineamento experimental foi o aleatorizado em blocos, com 10 tratamentos e 4 repetições, totalizando 40 parcelas para cada cultivar. Os tratamentos utilizados (Tabela 1) foram aplicados com pulverizador costal de pressão constante (CO_2), dotado de uma barra com quatro pontas jato plano leque (XR 11002[®]) espaçadas com 0,50 m. A pressão foi de 3 $kg\ cm^{-2}$, com vazão aproximada de 200 $L\ ha^{-1}$.

Para a primeira safra (2019/2020), as aplicações na FESCON ocorreram nos dias 06/12/2019 aos 26 dias após a emergência (DAE) (estágio V3 – emissão do 1º trifólio), 13/12/2019 aos 33 DAE (estágio R5 – pré-floração), 20/12/2019 aos 40 DAE (estágio R6 – floração) e 27/12/2019 aos 47 DAE (estágio R7 – formação das vagens). Na segunda safra (2020/2021) as aplicações ocorreram nos dias 12/12/2020 aos 26 DAE (estágio V3), 19/12/2020 aos 33 DAE (estágio R5), 26/12/2020 aos 40 DAE (estágio R6) e 02/01/2021 aos 47 DAE (estágio R7). Na terceira safra (2021/2022) as aplicações ocorreram nos dias 24/12/2021 aos 30 DAE (estágio V4), 30/12/2021 aos 36 DAE (estágio R5), 08/01/2022 aos 45 DAE (estágio R6) e 15/01/2022 aos 52 DAE (estágio R7).

As aplicações na UDE Oscar Rickli ocorrem nos dias 08/02/2020 aos 16 DAE (estágio V3), 15/02/2020 aos 23 DAE (estágio V4), 22/02/2020 aos 30 DAE (estágio R5) e 29/02/2020 aos 37 DAE (estágio R6).

Na Fazenda Xaxim, na primeira época as aplicações ocorreram no dia 02/10/2020 aos 21 DAE (estágio V3), dia 10/10/2020 aos 28 DAE (estágio R5), dia 23/10/2020 aos 35 DAE (estágio R6) e dia 06/11/20 aos 42 DAE (estágio R7). Para a segunda época as aplicações ocorreram no dia 07/02/2021 aos 21 DAE (estágio V3), dia 14/02/2021 aos 28 DAE (estágio R5), dia 21/02/2021 aos 35 DAE (estágio R6) e dia 28/02/21 aos 42 DAE (estágio R7).

Na FESCON as avaliações foram realizadas aos 26, 30, 36, 43, 56 e 64 DAE na primeira safra, aos 26, 36, 43, 50, 57 e 64 DAE na segunda safra e aos 30, 36, 45, 52, 55, 62 e 69 DAE na terceira safra. Na UDE Oscar Rickli as avaliações foram realizadas aos 16, 23, 30, 37, 44, 51, 58, 65 e 72 DAE. Na Fazenda Xaxim, para a primeira época de cultivo foram realizadas avaliações aos 21, 29, 42 e 56 DAE e aos 20, 27, 34, 41, 48 e 55 DAE para a segunda época de semeadura.

Em todas as localidades e safras foram realizadas avaliações de severidade da antracnose estimando a porcentagem de tecido foliar atacado, com auxílio da escala diagramática proposta por Godoy *et al.* (1996) (Figura 3). Foram analisadas as folhas do terço inferior, médio e superior de cinco plantas das quatro linhas centrais de cada parcela e a partir dos dados médios de severidade foi calculada a AACPD (SHANER; FINNEY, 1977).

Ao fim do ciclo da cultura foi realizada avaliação dos componentes de rendimento plantas por metro, vagens por planta e grãos por vagem além da colheita mecanizada das plantas da área útil das parcelas para estimar a produtividade (kg ha^{-1}) de cada tratamento. Para a FESCON, a colheita da primeira safra (2019/2020) ocorreu no dia 21/02/2020, na segunda safra (2020/2021) no dia 22/02/2021 e na terceira safra (2021/2022) nos dias 09/03/2022 para cultivar IPR Tuiuiú e 29/03/2022 para a cultivar IPR Quero-Quero. Na UDE Oscar Rickli a colheita foi realizada em 18/04/2020 e na Fazenda Xaxim, a colheita da primeira época (safra 2020) foi realizada em 26/12/2020 e na segunda época (safra 2020/2021) em 20/04/2021.

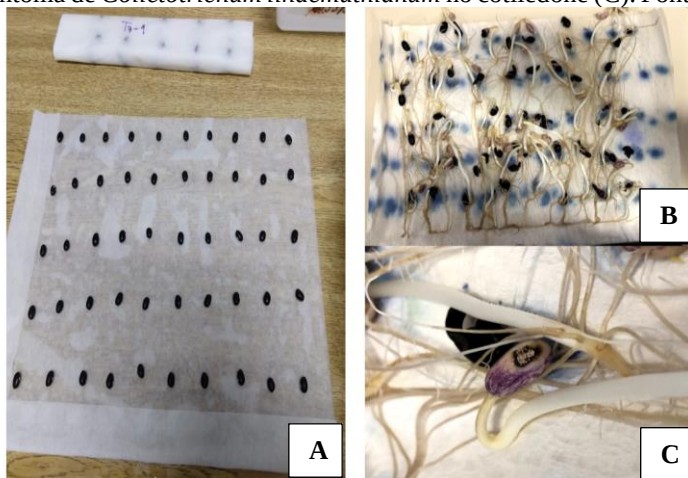
Os dados dos experimentos a campo foram coletados com auxílio do software Avalia[®]. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias, quando significativas, comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com auxílio da integração do Avalia[®] com o software R (ver. 4.0.4) e uso da biblioteca Agricolae (versão 1.3) para Análise e Separação de Médias em Experimentos Agrícolas.

4.4 QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES

As sementes colhidas nos experimentos de campo, de todas as localidades, foram submetidas ao teste de patologia pelo método de incubação em rolo de papel (MAPA, 2009). Foram utilizadas 200 sementes para cada tratamento, divididas em quatro repetições de 50 sementes. A metodologia utilizada na montagem, condução e avaliação dos experimentos foi a mesma descrita no item 4.1.2. (Figura 6).

O delineamento experimental foi inteiramente aleatorizado, com 10 tratamentos e 4 repetições, sendo cada rolo com 50 sementes considerado uma repetição. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias quando significativas comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para análise, os dados foram transformados em $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$, com auxílio do software estatístico SASM-Agri (CANTERI *et al.*, 2001).

FIGURA 6 – Sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) dispostas em folhas de papel germinação para avaliação da qualidade sanitária pelo método de incubação em rolo de papel (A); momento da avaliação (B); semente com sintoma de *Colletotrichum lindemuthianum* no cotilédone (C). Ponta Grossa - PR, 2022.



Fonte: A autora.

4.5 FASEOLINA

Para a quantificação da fitoalexina faseolina foi utilizada a metodologia de Dixon *et al.* (1983) adaptada por Solino *et al.* (2017). O experimento teve início com a semeadura no dia 17 de maio de 2021 e com leituras em 31 de maio 2021.

As sementes de feijão, das cultivares IPR Quero-Quero e IPR Tuiuiú foram desinfetadas em hipoclorito de sódio (5%) por cinco minutos e após, foram lavadas em água destilada e esterilizada. A semeadura ocorreu em bandejas com areia esterilizada e umedecida, as quais foram mantidas em câmara climatizada tipo BOD com temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, no escuro (Figura 7A). Sete dias após, segmentos de hipocótilos estiolados foram destacados das plantas e lavados em água esterilizada (Figura 7B).

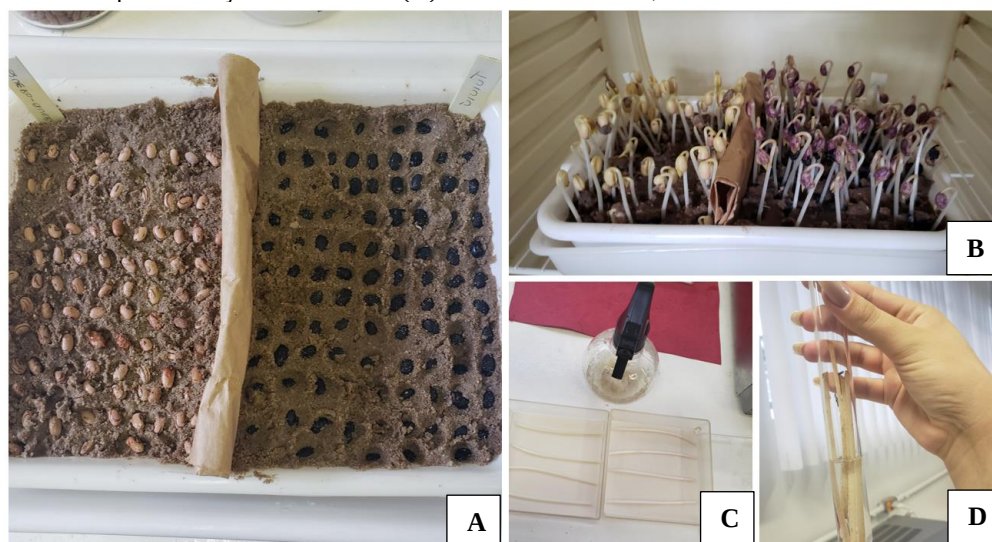
Foram utilizados quatro segmentos de hipocótilos para cada tratamento, os quais foram pesados e acomodados em caixas tipo gerbox, com duas folhas de papel filtro umedecidas (Figura 7C). Preparou-se volume de calda de 50 mL para cada tratamento (Tabela 1), os quais foram pulverizados sobre os hipocótilos com auxílio de um pulverizador manual. Em seguida os gerbox foram mantidos em BOD a $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ no escuro por 48 horas.

Após as 48 horas, os hipocótilos foram transferidos para tubos de ensaio previamente esterilizados contendo 10 mL de etanol (álcool etílico 100%) e foram mantidos em câmara tipo BOD a $4^{\circ}\text{C} \pm 2$ por 48 horas (Figura 7D). Em seguida os tubos foram agitados por uma hora em agitador para a extração da faseolina (Figura 7).

As medidas foram realizadas em espectrofotômetro a 280 nm e o resultados expressos como unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS g fw⁻¹). O experimento foi

realizado em delineamento inteiramente aleatorizado e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias quando significativas comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com auxílio do software estatístico SASM-Agri (CANTERI *et al.*, 2001).

FIGURA 7 – Semeadura de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) IPR Quero-Quero e IPR Tuiuiú em bandeja contendo areia esterilizada (A); emergência das plântulas após 7 dias em câmara climatizada no escura para estiolamento dos hipocótilos (B); segmentos de hipocótilos estiolados cortados e acomodados em gerbox para aplicação dos tratamentos (C) e hipocótilos em tubo de ensaio com etanol para extração da faseolina (D). Ponta Grossa – PR, 2022.



Fonte: Taize Schafranski.

4.6 ANÁLISE ENZIMÁTICA

4.6.1 Extrato enzimático

Para obtenção dos extratos enzimáticos, foram realizados dois diferentes tipos de experimentos com tratamento de sementes. O primeiro experimento foi realizado apenas com o tratamento de sementes e o segundo com tratamento de sementes e posterior inoculação das plântulas de feijão com *C. lindemuthianum*.

Para o primeiro experimento, as sementes foram tratadas com os tratamentos descritos na Tabela 1, com alteração do fungicida sendo utilizado um específico para tratamento de sementes, com formulação metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil (Maxim Advanced®) e dose de 125 mL/100 kg de sementes. Os experimentos tiveram início no dia 02 de fevereiro de 2021 (cultivar IPR Tuiuiú) e no dia 17 de fevereiro de 2021 (cultivar IPR Quero-Quero).

Nas mesmas datas, as sementes tratadas de cada cultivar, foram semeadas em bandejas de polipropileno de 128 células, divididas em quatro repetições de 25 sementes. Após sete dias, as plântulas foram coletadas, congeladas imediatamente em gelo seco e acondicionadas em freezer para análise enzimática posterior.

Para o segundo experimento, o procedimento de tratamento de sementes foi realizado com a mesma metodologia acima descrita, com semeadura em 09 de março de 2021 para as duas cultivares, mas houve inoculação das plântulas sete dias após a semeadura, com suspensão de esporos de *C. lindemuthianum* (1×10^7 esporos mL^{-1}) previamente cultivados em meio vagem (DALLA PRIA *et al.*, 1997). As plântulas foram coletadas 24 e 48 horas após a inoculação do patógeno, congeladas imediatamente em gelo seco e acondicionadas em freezer para análise enzimática posterior.

A obtenção do extrato proteico foi realizada utilizando-se amostra de folhas (0,5 g) que foi homogeneizada mecanicamente em 4 mL de tampão acetato de sódio 100 mM (pH 5,0), com auxílio de almofariz de porcelana. O homogenato foi centrifugado a 20.000 *g* durante 25 minutos a 4°C e o sobrenadante obtido considerado como extrato enzimático (KUHN; PASCHOLATI, 2010). Este extrato foi utilizado para a quantificação das enzimas peroxidase de guaiacol e polifenoloxidase.

4.6.2 Peroxidase de guaiacol (E.C. 1.11.1.7)

A atividade da peroxidase de guaiacol (POX) foi determinada à 30°C, com uso do método espectrofotométrico direto, pela medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol a 470 nm (LUSSO; PASCHOLATI, 1999). A mistura da reação continha 0,10 mL do extrato proteico e 2,9 mL de solução de guaiacol (250 μL de guaiacol 0,5%; 306 μL de peróxido de hidrogênio 3%; 100 mL de tampão fosfato 0,01 M pH 6,0). A cubeta de referência continha 3 mL da solução de guaiacol e a atividade da peroxidase foi expressa como unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS g fw^{-1}).

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente aleatorizado e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias quando significativas comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com auxílio do software estatístico SASM-Agri (CANTERI *et al.*, 2001).

4.6.3 Polifenoloxidase (EC 1.10.3.2)

A atividade das polifenoloxidase foi determinada usando-se a metodologia de Duangmal e Apenten (1999). O experimento consistiu em mensurar a oxidação do catecol convertido em quinona, reação esta mediada pela enzima em estudo. O substrato foi composto por 0,1101 g de catecol (20 mM), 50 mL de tampão fosfato de sódio 100 mM (pH 6,8) e a

reação se desenvolveu misturando-se 900 µL do substrato (solução de catecol 0,02 M) e 100 µL do extrato enzimático.

A temperatura da reação foi de 30°C, com as leituras realizadas em espectrofotômetro a 420 nm, realizadas de forma direta por período de 2 minutos. O diferencial entre a última e a primeira leitura foi utilizado para a determinação da atividade da enzima e os resultados foram expressos em unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS g fw⁻¹).

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente aleatorizado e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias quando significativas comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para análise, os dados foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$, com auxílio do software estatístico SASM-Agri (CANTERI *et al.*, 2001).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EXPERIMENTOS EM CASA DE VEGETAÇÃO

5.1.1 Avaliação da severidade

As avaliações de severidade da antracnose nos experimentos de casa de vegetação tiveram início com o aparecimento dos primeiros sintomas, isto é, um dia após a retirada da câmara úmida dos vasos, no dia 25 de outubro de 2019 para o primeiro experimento e no dia 18 de fevereiro de 2021 para o segundo experimento. Os sintomas foram primeiramente observados nas folhas cotiledonares, com progressão da doença para os trifólios conforme as plantas cresciam e se desenvolviam.

Observou-se que no primeiro experimento (Tabela 2) todos os tratamentos foram eficazes na redução da severidade da doença e consequentemente a AACPD de *C. lindemuthianum* na cultivar IPR Tuiuiú, quando comparados ao tratamento controle. Não foram observadas diferenças estatísticas entre as espécies de *Trichoderma*, o indutor de resistência ASM e o fungicida hidróxido de fentina. Os dados demonstraram que houve controle da doença independentemente do método utilizado quando se compara ao tratamento em que não houve controle.

Quando são analisados os dados da cultivar IPR Quero-Quero (Tabela 2) constatou-se diferenças estatísticas entre os tratamentos no primeiro experimento. O fungicida ocasionou redução no desenvolvimento da doença, quando comparado ao controle, mas foi estatisticamente inferior ao indutor de resistência ASM e as espécies de *Trichoderma*. A maior AACPD foi verificada no tratamento controle, seguindo das plantas que foram pulverizadas com o fungicida hidróxido de fentina.

Ao avaliar produtos alternativos para o controle de *C. lindemuthianum* via aplicação foliar em feijão nas condições de casa de vegetação, Christmann *et al.* (2019) utilizaram entre os tratamentos as espécies *T. viride* e *T. tomentosum* verificaram que a aplicação dos esporos reduziu a severidade da doença em aproximadamente 36,31% em comparação às plantas que não receberam aplicação de nenhum tratamento.

Da mesma forma, observou-se neste estudo que o uso de *Trichoderma*, independente da espécie, resultou em redução de 69,54 e 46,10% na AACPD da antracnose no primeiro experimento para as cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, respectivamente, quando comparado ao tratamento controle (Tabela 2). Assim tais resultados alcançados são similares aos relatados pelos autores supracitados.

TABELA 2 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em casa de vegetação após aplicação dos tratamentos e inoculação com o patógeno. Ponta Grossa – PR, 2022.

PRIMEIRO EXPERIMENTO		
TRATAMENTO	AACPD	
	IPR TUIUIÚ	IPR QUERO-QUERO
<i>Trichoderma asperellum</i>	21,24 b*	53,99 c
<i>Trichoderma endophyticum</i>	36,06 b	47,68 c
<i>Trichoderma harzianum</i>	22,81 b	52,06 c
<i>Trichoderma lentiforme</i>	28,02 b	45,33 c
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	22,89 b	33,31 c
<i>Trichoderma tomentosum</i>	21,13 b	29,22 c
<i>Trichoderma viride</i>	27,02 b	40,44 c
Acibenzolar-S-Metílico (Bion®)	49,37 b	66,39 c
Hidróxido de fentina (Mertin®)	52,93 b	99,29 b
Controle	119,00 a	124,92 a
C.V. (%)	48,28	24,59
SEGUNDO EXPERIMENTO		
TRATAMENTO	AACPD	
	IPR TUIUIÚ	IPR QUERO-QUERO
<i>Trichoderma asperellum</i>	4,78 c	31,44 c
<i>Trichoderma endophyticum</i>	6,26 c	35,76 c
<i>Trichoderma harzianum</i>	4,80 c	25,00 c
<i>Trichoderma lentiforme</i>	6,65 c	33,80 c
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	10,94 c	23,35 c
<i>Trichoderma tomentosum</i>	5,52 c	26,63 c
<i>Trichoderma viride</i>	5,21 c	24,13 c
Acibenzolar-S-Metílico (Bion®)	26,49 b	47,83 b
Hidróxido de fentina (Mertin®)	26,38 b	42,92 b
Controle	36,13 a	77,45 a
C.V. (%)	26,77	28,71

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

C.V.= coeficiente de variação.

As alternativas de controle da antracnose em feijão podem ser utilizadas isoladamente ou de forma combinada. Figueira *et al.* (2020) realizaram aplicação de fosfito de potássio isolado e em combinação com *Trichoderma virens* (Mill., Giddens & Foster) Arx e *T. harzianum* em plantas da cultivar IPR Tangará em casa de vegetação e houve redução na severidade da doença em 68,84 e 71%, respectivamente. Isso demonstra que a utilização de *Trichoderma* spp. é eficaz para reduzir a severidade da doença em condições de casa de vegetação.

Para ambas as cultivares, no segundo experimento, nota-se que a aplicação de todos os isolados de *Trichoderma* resultaram em menor desenvolvimento acumulado da antracnose e os valores de AACPD foram menores estatisticamente quando comparados aos tratamentos com ASM, fungicida hidróxido de fentina e controle (Tabela 2).

Segundo informações disponibilizadas pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR, 2013), o qual é detentor do desenvolvimento de ambas as cultivares, a cultivar IPR Tuiuiú é considerada como suscetível à antracnose e a IPR Quero-Quero como moderadamente resistente. No entanto alguns estudos demonstram que a cultivar IPR Quero-Quero é mais suscetível ao fungo *C. lindemuthianum* em condições de casa de vegetação com altas severidades da doença.

Tal fato foi relatado por Assunção *et al.* (2020), em trabalho onde foram utilizados produtos alternativos para controle de antracnose. Os autores verificaram que a cultivar IPR Quero-Quero apresentou alto valor de AACPD em comparação às demais utilizadas (IPR Tuiuiú, IPR Uirapuru e BRS Esteio), demonstrando que a resistência mediana que a cultivar possui ao patógeno já não é mais tão eficaz para suprimir o desenvolvimento da doença. Esses resultados corroboram com os encontrados neste trabalho, onde a aplicação de produtos alternativos reduziu o progresso da antracnose em condições de casa de vegetação com maiores severidades para a cultivar IPR Quero-Quero.

A habilidade dos agentes de controle biológico em identificar e mediar eventos moleculares na presença de um potencial hospedeiro é de grande importância para o início dos processos de defesa. A nível molecular, *Trichoderma* spp. exibe diferentes respostas transcriptômicas em diferentes estágios de interação com seus hospedeiros o que resulta em respostas de defesa contra os patógenos (ATANASOVA *et al.*, 2013).

Surekha *et al.* (2014) demonstram que a aplicação de *T. viride* em feijão-mungo (*Vigna mungo* L.) resultou em respostas de defesa em série como o acúmulo de fenóis, enzimas, deposição de lignina, entre outros. Os autores sugerem que o uso de fungos sapróbios pode ser uma alternativa promissora aos fungicidas químicos, reduzindo impacto ambiental e assegurando o controle das doenças em plantas.

Alguns produtos sintéticos podem ser utilizados para induzir resistência nas plantas e o mais conhecido é a base de acibenzolar-S-metílico (Bion[®]). Ele não possui ação fungistática como os fungicidas, mas na planta desenvolve papel semelhante ao ácido salicílico na via de transdução de sinal que resulta em resistência sistêmica contra patógenos (YAMAGUCHI, 1998). A redução nas doenças está atrelada ao aumento da atividade de enzimas que exercem ação antimicrobiana e proteção antioxidativa (ANDRADE *et al.*, 2013). Neste experimento fica evidente que a aplicação de ASM pode ser uma alternativa de controle, uma vez que foram observadas reduções na AACPD em ambos os experimentos (Tabela 2).

5.1.2 Tratamento de sementes

Para os experimentos com tratamento de sementes, observou-se que no teste de transmissibilidade de *C. lindemuthianum* para a cultivar IPR Tuiuiú, no primeiro experimento, a maior porcentagem de emergência ocorreu nos tratamentos *T. harzianum*, *T. tomentosum* e controle (sem tratamento) com emergência média de 96,33% e diferença estatística dos demais (Tabela 3). Já para a variável de plântulas saudáveis, os tratamentos com maior porcentagem foram *T. asperellum*, *T. endophyticum*, *T. harzianum*, *T. lentiforme*, *T. koningiopsis* e o fungicida, com diferença estatística dos outros tratamentos e média de 80,83%.

TABELA 3 - Emergência (%) e plântulas saudáveis (%) de feijão (*Phaseolus vulgaris*) cultivar IPR Tuiuiú 15 dias após tratamento, inoculação e semeadura das sementes em casa de vegetação. Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	1º EXPERIMENTO		2º EXPERIMENTO	
	EMERGÊNCIA	PLÂNTULAS SADIAS	EMERGÊNCIA	PLÂNTULAS SADIAS
<i>Trichoderma asperellum</i>	85,00 b*	81,00 a	99,00 a	71,00 c
<i>Trichoderma endophyticum</i>	92,00 b	77,00 a	97,00 a	70,00 c
<i>Trichoderma harzianum</i>	94,00 a	87,00 a	91,00 b	62,00 c
<i>Trichoderma lentiforme</i>	91,00 b	82,00 a	96,00 a	73,00 c
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	92,00 b	78,00 a	98,00 a	63,00 c
<i>Trichoderma tomentosum</i>	97,00 a	60,00 b	97,00 a	89,00 b
<i>Trichoderma viride</i>	89,00 b	72,00 b	71,00 c	65,00 c
Acibenzolar-S-metílico (Bion®)	83,00 b	63,00 b	93,00 a	36,00 d
Metalaxil-m+tiabendazol+fludioxonil (Maxim Advanced®)	90,00 b	80,00 a	91,00 b	78,00 c
Controle	98,00 a	71,00 b	99,00 a	96,00 a
C.V. (%)	8,63	9,15	9,03	8,95

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Dados originais, para análise foram transformados em $\arcsin \sqrt{x/100}$.

C.V.= coeficiente de variação.

Para o segundo experimento, os dados foram similares aos do primeiro com menor porcentagem de emergência para o tratamento *T. viride* (71,00%) diferindo estatisticamente dos tratamentos (Tabela 3). Os tratamentos *T. harzianum* e fungicida resultaram em um percentual de emergência mediano após a análise dos dados, com média de 91,00% quando comparado aos outros tratamentos, com média de 97,00% de emergência.

Carvalho *et al.* (2011) ressaltaram que, embora efeitos negativos com o uso de *Trichoderma* spp. sejam raros, quando acontecem, eles podem estar associados a dose utilizada ou, até mesmo, ao isolado utilizado para o tratamento de sementes. Souza *et al.* (2018) confirmam essa hipótese, uma vez que *T. harzianum* influenciou negativamente o desenvolvimento de mudas de tomate após inoculação das sementes. Essas afirmações

corroboram com o que ocorreu neste estudo, uma vez que os isolados *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. lentiforme*, *T. koningiopsis* e *T. viride* resultaram em menores porcentagens de emergência no primeiro experimento para a cultivar IPR Tuiuiú.

Com relação aos dados de sanidade das plântulas, notou-se que para o segundo experimento houve maior proporção de plântulas doentes entre os tratamentos testados, sendo o tratamento controle com maior proporção de plântulas sadias (96,00%). O tratamento com maior proporção de plântulas doentes foi o fungicida, com apenas 36% das plântulas livres de sintomas, ou seja, 64,00% possuíam sintomas da antracnose para a cultivar IPR Tuiuiú. Dentre as espécies de *Trichoderma*, *T. tomentosum* foi a que resultou em maior proporção de plântulas sadias (89,00%) com resultado estatisticamente superior as demais que não diferiram entre si (Tabela 3).

O tratamento de sementes com *Trichoderma* spp. nem sempre pode ser uma alternativa viável para controle de doenças. Les *et al.* (2020) afirmam que o tratamento de sementes de soja com *T. harzianum* foi ineficiente para reduzir a incidência de *Rhizoctonia solani* (Kühn), nas condições de casa de vegetação e que em alguns casos foram observados danos prejudiciais às sementes em comparação com a testemunha inoculada.

Ao contrário, Gutiérrez-Moreno *et al.* (2021) utilizaram as espécies *Trichoderma longibrachiatum* MK1 (Rifai), *T. asperellum* B6, *T. atroviride* P1 e *T. harzianum* T22 para tratamento de sementes das cultivares de feijão mais utilizadas no México e verificaram que 20 dias após a semeadura os isolados foram eficientes na redução da severidade de *C. lindemuthianum* nas folhas em condição de casa de vegetação.

Para a cultivar IPR Quero-Quero (Tabela 4), no primeiro experimento, observou-se que os tratamentos *T. asperellum*, fungicida e controle foram os que resultaram em menor porcentagem de emergência, com diferença estatística dos demais. Para esse mesmo experimento, os tratamentos *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. lentiforme*, *T. koningiopsis*, *T. viride*, *T. tomentosum* e o indutor de resistência ASM resultaram em maiores proporções de plântulas sadias, com média de 72%, estatisticamente superiores aos tratamentos *T. endophyticum*, *T. tomentosum*, fungicida e controle.

Os resultados do segundo experimento para a cultivar IPR Quero-Quero foram muito semelhantes aos encontrados no primeiro experimento, com maior porcentagem de emergência nos tratamentos *T. endophyticum*, *T. harzianum*, *T. lentiforme*, *T. koningiopsis*, *T. tomentosum*, *T. viride* e ASM, com média de 71,29% (Tabela 4). O mesmo ocorreu com a variável plântulas sadias, os tratamentos *T. endophyticum*, *T. tomentosum*, *T. viride*, fungicida foram inferiores estatisticamente que os demais.

TABELA 4 - Emergência (%) e plântulas sadias (%) de feijão (*Phaseolus vulgaris*) cultivar IPR Quero-Quero 15 dias após tratamento, inoculação e semeadura das sementes em casa de vegetação. Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	1º EXPERIMENTO		2º EXPERIMENTO	
	EMERGÊNCIA	PLÂNTULAS SADIAS	EMERGÊNCIA	PLÂNTULAS SADIAS
<i>Trichoderma asperellum</i>	77,00 b*	73,00 a	65,00 b	61,00 a
<i>Trichoderma endophyticum</i>	84,00 a	51,00 b	72,00 a	51,00 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	83,00 a	79,00 a	71,00 a	67,00 a
<i>Trichoderma lentiforme</i>	83,00 a	74,00 a	71,00 a	62,00 a
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	84,00 a	70,00 a	72,00 a	58,00 a
<i>Trichoderma tomentosum</i>	86,00 a	52,00 b	74,00 a	40,00 b
<i>Trichoderma viride</i>	81,00 a	64,00 a	69,00 a	52,00 b
Acibenzolar-S-Metílico (Bion®)	82,00 a	72,00 a	70,00 a	60,00 a
Metalaxil-M+tiabendazol+fludioxonil (Maxim Advanced®)	75,00 b	55,00 b	63,00 b	43,00 b
Controle	71,00 b	42,00 b	56,00 b	43,00 b
C.V. (%)	6,68	15,91	6,30	10,31

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Dados originais, para análise foram transformados em $\arcsin \sqrt{x/100}$.

C.V.= coeficiente de variação.

Para o primeiro experimento (Tabela 4), a emergência das plântulas foi maior quando houve aplicação dos isolados *T. endophyticum*, *T. harzianum*, *T. lentiforme*, *T. koningiopsis*, *T. tomentosum* e *T. viride* com percentual de emergência superior ao verificado com a aplicação de fungicida e ao controle. Carvalho *et al.* (2011) verificaram que três diferentes isolados de *T. harzianum* proporcionaram percentuais de germinação superiores nas sementes de feijão cultivar Jalo Precoces em comparação às que não receberam tratamento.

Silva *et al.* (2017) demonstram que *T. harzianum* pode ser capaz de colonizar sementes e raízes de plântulas de soja após tratamento, mas o fungo simbiote não teve a capacidade de controlar *S. sclerotiorum* e aumentar a emergência das plântulas nas condições de casa de vegetação.

Por outro lado, Yadav, Dubey e Upadhyay (2021) concluíram que *Paenibacillus dendritiformis* (Ash), *T. harzianum* e *T. asperellum* possuem grande potencial para induzir resistência sistêmica contra *Colletotrichum truncatum* (Andrus & Moore) nas plantas após o tratamento de sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.). Os autores afirmam que esses agentes de biocontrole não apenas induzem o sistema de defesa nas plantas, mas também suprimem o estabelecimento de patógenos e reduzem o desenvolvimento de doenças.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2013) recomenda que as sementes de feijão devem ser comercializadas com germinação acima de 80%. A germinação média nos dois experimentos para as sementes da cultivar IPR Tuiuiú foi de 92,15% (Tabela

3). No entanto foi de 74,45% para a cultivar IPR Quero-Quero (Tabela 4), com valores abaixo do recomendado.

Após realizar o teste de incubação em rolo de papel (MAPA, 2009), observou-se que a aplicação dos tratamentos foi eficaz para reduzir a incidência de *C. lindemuthianum* nas sementes das duas cultivares testadas em condições de laboratório. Todos os tratamentos foram estatisticamente superiores ao tratamento controle (Tabela 5).

TABELA 5 - Incidência de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, após tratamento, inoculação e incubação por sete dias pelo método do rolo de papel. Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	INCIDÊNCIA (%)	
	IPR TUIUIÚ	IPR QUERO-QUERO
<i>Trichoderma asperellum</i>	37,00 c*	40,50 c
<i>Trichoderma endophyticum</i>	34,00 c	26,50 d
<i>Trichoderma harzianum</i>	37,00 c	22,00 d
<i>Trichoderma lentiforme</i>	35,00 c	35,50 c
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	33,00 c	32,50 c
<i>Trichoderma tomentosum</i>	32,00 c	34,00 c
<i>Trichoderma viride</i>	32,00 c	29,50 d
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	84,50 b	87,00 b
Metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil (Maxim Advanced [®])	4,00 d	4,00 e
Controle	98,00 a	98,00 a
C.V. (%)	10,44	9,33

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Dados originais, para análise foram transformados em $\arcsin \sqrt{x/100}$.

C.V.= coeficiente de variação.

Para a cultivar IPR Tuiuiú, a menor incidência foi observada nas sementes que receberam a aplicação do fungicida (Tabela 5). Em seguida, as menores incidências foram observadas nas sementes tratadas com as espécies de *Trichoderma*, não havendo diferenças estatísticas entre elas.

Os mesmos resultados foram visualizados para a cultivar IPR Quero-Quero, com maior incidência do patógeno no tratamento controle, menor incidência no tratamento com fungicida, mas houve diferenças estatísticas entre as espécies de *Trichoderma*. As espécies *T. endophyticum*, *T. harzianum* e *T. viride* foram as mais eficientes para o controle do patógeno quando comparadas as demais (Tabela 5).

O tratamento com fungicidas é considerado como clássico e eficaz para o controle de patógenos em sementes. Vários são os trabalhos que comprovam essa eficiência e em um deles Balestrin *et al.* (2020) demonstraram que o uso de fungicida (carboxina + tiram) proporcionou maiores percentuais de emergência de plântulas de feijão e soja em contraste com sementes não tratadas.

O uso de fungicidas pode evitar a disseminação de patógenos em sementes infectadas ou pode resultar em efeito curativo se utilizados após a infecção. Porém, o uso desses defensivos agrícolas ocasiona em alto custo de produção, nem sempre geram resultados eficientes e podem acarretar resíduos ao meio ambiente e aos grãos de feijão produzidos (MOHAMMED, 2013; PADDER *et al.*, 2017).

Para ambas cultivares, o uso de *Trichoderma* spp. pode ser uma alternativa viável para o controle de fungos patogênicos de sementes, como é o caso de *C. lindemuthianum*. Espécies do gênero *Trichoderma* são considerados antagonistas e isso é explicado pela produção de antibióticos e metabólitos secundários, de amplo espectro que têm capacidade de inibir o desenvolvimento de outros fungos (DENNIS; WEBSTER, 1971; NAHER *et al.*, 2014).

O uso de acibenzolar-S-metílico (Bion[®]) não foi eficaz para reduzir a incidência do patógeno nas sementes, uma vez que esta molécula não possui atividade antimicrobiana direta contra microrganismos pois induz a produção de compostos de autodefesa da planta, intervindo em seus processos fisiológicos e bioquímicos (MYRESIOTIS; VRYZAS; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, 2014).

O produto Bion[®] é registrado como ativador de plantas e recomendado para aplicação na parte aérea das plantas, uma vez que este ativa os mecanismos naturais de defesa das plantas levando ao aumento na resistência aos patógenos (ADAPAR, 2022). Carvalho *et al.* (2018) utilizaram acibenzolar-S-metílico no tratamento de sementes de feijão e não observaram diferenças entre as variáveis emergência e plântulas normais quando houve desafio com o fungo *P. griseola*.

Com os resultados obtidos, pode-se considerar o uso de espécies de *Trichoderma* como alternativa viável para o controle de fungos patogênicos, como é o caso de *C. lindemuthianum*, em sementes de feijão das cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero.

5.2 EXPERIMENTO EM FOLHA DESTACADA

A metodologia em folha destacada possibilita a obtenção de resultados muito semelhantes aos obtidos em campo e casa de vegetação (TWIZEYIMANA *et al.*, 2007), sendo uma metodologia já estabelecida. Yarwood (1946) cita que entre as principais vantagens dessa técnica estão a economia de espaço, material do hospedeiro e inóculo do patógeno, risco baixo de contaminações, maior uniformidade do experimento e maior facilidade em controlar as condições ambientais. Rezene *et al.* (2018) recomendam a utilização desta técnica em estudos com feijão por ser rápida e eficiente.

Os resultados encontrados demonstraram que AACPD para os trifólios das cultivares IPR Tuiuiú e da IPR Quero-Quero (Tabela 6) foi menor quando houve aplicação dos tratamentos, ou seja, houve controle da antracnose, com diferença estatística entre o controle (sem aplicação) e os demais tratamentos. Isso demonstra que a aplicação de isolados de *Trichoderma*, ASM e do fungicida foram eficientes para reduzir os sintomas ocasionados pelo patógeno.

TABELA 6 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) no teste em folha destacada de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, com aplicação dos tratamentos (lado esquerdo), sem aplicação (lado direito) e inoculação com o patógeno. Ponta Grossa – PR, 2022.

IPR TUIUIÚ			
TRATAMENTO	AACPD		
	DIREITO	ESQUERDO	TOTAL
<i>Trichoderma asperellum</i>	2,75 bns*	2,34 b	5,09 b
<i>Trichoderma endophyticum</i>	2,69 b	2,23 b	4,92 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	3,32 b	2,22 b	5,54 b
<i>Trichoderma lentiforme</i>	2,89 b	2,58 b	5,47 b
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	3,51 b	2,60 b	5,72 b
<i>Trichoderma tomentosum</i>	3,57 b	3,11 b	6,23 b
<i>Trichoderma viride</i>	3,04 b	2,59 b	5,63 b
Acibenzolar-S-Metílico (Bion®)	3,07 b	3,31 b	6,38 b
Hidróxido de fentina (Mertin®)	4,08 b	3,33 b	6,45 b
Testemunha	5,42 a	5,29 a	10,71 a
C.V. (%)	30,23	35,34	20,14
IPR QUERO-QUERO			
TRATAMENTO	AACPD		
	DIREITO	ESQUERDO	TOTAL
<i>Trichoderma asperellum</i>	4,95 bns*	3,01 b	7,96 b
<i>Trichoderma endophyticum</i>	4,44 b	3,43 b	7,87 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	4,81 b	3,10 b	8,00 b
<i>Trichoderma lentiforme</i>	4,25 b	3,53 b	7,78 b
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	4,27 b	3,30 b	7,57 b
<i>Trichoderma tomentosum</i>	4,68 b	3,05 b	7,73 b
<i>Trichoderma viride</i>	4,59 b	3,41 b	8,00 b
Acibenzolar-S-Metílico (Bion®)	4,23 b	3,40 b	7,63 b
Hidróxido de fentina (Mertin®)	4,63 b	3,54 b	8,17 b
Controle	7,89 a	7,22 a	15,11 a
C.V. (%)	18,74	21,54	15,34

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

NS = não significativo para comparativo nas linhas (lados de avaliação).

C.V.= coeficiente de variação.

Por outro lado, quando se compara os lados dos folíolos de avaliação, esquerdo com aplicação dos tratamentos e direito sem aplicação, não foram identificadas diferenças estatísticas, indicando que não houve indução de resistência sistêmica nos folíolos (Tabela 6). Esses resultados contrariam os obtidos por Bae *et al.* (2016), em que foram utilizadas 128 isolados de *Trichoderma*, entre eles *T. harzianum* e *T. koningiopsis*, e houve a indução de

resistência em folhas destacadas de pimenta (*C. annum* cv. Bugang) e tomate (*S. lycopersicum*), reduzindo o desenvolvimento de *Phytophthora* spp.

Ao realizar a metodologia em folhas destacadas de soja, Gabardo *et al.* (2020b) observaram que a aplicação de produtos alternativos, incluindo o indutor de resistência ASM, não foram eficientes para induzir respostas de defesa nas folhas e conter o desenvolvimento da ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & Syd.), corroborando com os resultados desse estudo.

Carmo *et al.* (2015) ao conduzirem experimentos com folhas destacadas e em campo com a interação feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) x *C. truncatum* afirmam que nos experimentos em laboratório a concentração de esporos, a ação da luz e umidade fez com que o aparecimento da doença acontecesse de forma controlada quando comparados aos experimentos em campo, onde o número de variações é maior.

A utilização da metodologia de folha destacada nos fornece informações importantes sobre o manejo de doenças, não apenas para indicar se ocorre ou não a indução de defesas nas plantas, mas também como possibilidade de identificação de novos microrganismos para controle biológico. Essa viabilidade foi relatada por Elamathi *et al.* (2018) onde os autores não encontraram respostas de defesa em folhas de cana (*Saccharum officinarum* L.) após aplicação de conídios de *T. harzianum* (T20) mas houve inibição no crescimento do fungo patogênico *Colletotrichum falcatum* (Went).

O experimento de folha destacada deixa evidente que a utilização de *Trichoderma* spp é eficaz para controlar a antracnose em feijão, mas que não houve indução de resistência (Tabela 6), onde não houve diferença significativa entre os lados avaliados.

5.3 EXPERIMENTOS EM CAMPO

5.3.1 Fazenda Escola Capão da Onça (FESCON)

A primeira avaliação de severidade da antracnose para ambas cultivares (IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero) na safra 2019/2020, ocorreu no mesmo dia da primeira aplicação aos 26 DAE (06/12/2019), anteriormente a pulverização dos tratamentos, onde não foi verificada incidência da doença.

Os primeiros sintomas foram observados na segunda avaliação (Anexo A), que ocorreu juntamente com a segunda aplicação aos 30 DAE (10/12/2019), com severidade média de 1,35% para a cultivar IPR Tuiuiú e 1,84% para a cultivar IPR Quero-Quero. A máxima

severidade foi de 3,70% e 3,85% para as cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, respectivamente, aos 64 DAE (14/01/2020), na última avaliação.

Os valores da AACPD denotam que a aplicação dos tratamentos, independentemente de sua natureza, foi eficaz para reduzir o desenvolvimento acumulado da antracnose em plantas de feijão, independente da cultivar, uma vez todos os produtos foram superiores estatisticamente ao tratamento controle sem aplicação (Tabela 7).

Na análise por cultivar, observou-se que as plantas da cultivar IPR Tuiuiú que receberam a aplicação de *T. endophyticum*, *T. harzianum*, *T. lentiforme* e *T. viride* foram as que apresentaram menor severidade da doença, ocasionando em menor AACPD quando comparado aos demais tratamentos. Já os tratamentos *T. asperellum*, *T. koningiopsis*, *T. tomentosum*, ASM e fungicida resultaram em controle mediano da doença, diferindo apenas do tratamento sem controle (Tabela 7).

TABELA 7 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, safra 2019/2020. Fazenda Escola Capão da Onça, Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	AACPD	
	IPR TUIUIÚ	IPR QUERO-QUERO
<i>Trichoderma asperellum</i>	61,65 b*	72,70 b
<i>Trichoderma endophyticum</i>	37,88 c	67,14 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	38,47 c	62,73 b
<i>Trichoderma lentiforme</i>	49,64 c	70,98 b
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	64,82 b	73,46 b
<i>Trichoderma tomentosum</i>	55,75 b	61,38 b
<i>Trichoderma viride</i>	39,85 c	76,02 b
Acibenzolar-S-Metílico (Bion®)	56,68 b	64,48 b
Hidróxido de fentina (Mertin®)	68,59 b	60,57 b
Controle	104,02 a	122,94 a
C.V. (%)	25,05	20,84

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

C.V.= coeficiente de variação.

Vale ressaltar que, a aplicação dos isolados de *Trichoderma* (*T. endophyticum*, *T. harzianum*, *T. lentiforme* e *T. viride*) resultaram em controle superior quando comparado ao fungicida e os isolados *T. asperellum*, *T. koningiopsis* e *T. tomentosum* resultaram em controle estatisticamente igual ao fungicida, demonstrando que o controle de doenças pode ser realizado de maneira eficaz para a cultivar IPR Tuiuiú com produtos alternativos equiparado ao controle com fontes químicas.

Os dados de AACPD para a cultivar IPR Quero-Quero demonstraram que para a safra 2019/2020 o desenvolvimento acumulado da antracnose foi inferior quando houve aplicação de

algum tratamento, com todos os tratamentos superiores estatisticamente à testemunha (Tabela 7).

A precipitação e umidade relativa do ar durante a condução do experimento na safra 2019/2020 foram relativamente baixas com altas temperaturas (Anexo F). Houve intervalos de dias em que não foi registrada precipitação e essas condições desfavorecem o desenvolvimento de *C. lindemuthianum*, uma vez que o patógeno requer alta umidade e temperaturas amenas para esporulação e infecção do hospedeiro (DALLA PRIA; SILVA, 2010).

Beladeli *et al.* (2021a) verificaram que a aplicação de *T. asperellum* e fungicida hidróxido de fentina não foram eficientes para reduzir a severidade do cretamento bacteriano comum (*Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*) em plantas de feijão da cultivar IPR Tangará nas condições de campo. Estes resultados contrariam aos obtidos neste estudo, em que tais tratamentos foram eficientes para reduzir a severidade da antracnose.

Amin, Teshele e Tesfay (2014) relataram efeitos significativos com a aplicação das espécies *T. viride* e *T. harzianum* em condições de campo para diminuição da incidência e severidade da antracnose em feijão, da mesma forma que foi observado neste estudo.

O uso de fungicidas é a forma mais comum de controle e manejo de doenças nas plantas, embora o excesso na utilização possa ocasionar inúmeros problemas como redução na taxa de controle (PADDER *et al.*, 2010). Segundo Amin *et al.* (2014), a aplicação de certos fungicidas em feijão possibilita que a cultura atinja a maturidade fisiológica sem que haja a infecção severa da antracnose. Os autores avaliaram fungicidas (mancozeb, folpan e mancolaxyl) e bioagentes (*T. harzianum*, *T. viride* e *Pseudomonas fluorescens* Flügge) e a alta severidade na testemunha indicou que tantos os fungicidas quanto os bioagentes foram eficazes para reduzir a severidade da antracnose nas folhas de feijão.

A aplicação do indutor de resistência ASM resultou em controle da antracnose (Tabela 7), tendo eficiência acima do tratamento controle para ambas cultivares, mas inferior às espécies *T. endophyticum*, *T. harzianum*, *T. lentiforme* e *T. viride* para a cultivar IPR Tuiuiú. Hennipman *et al.* (2019) encontraram resultados similares ao trabalharem com controle da mancha angular (*P. griseola*) com produtos alternativos em feijão (IPR Uirapuru), em condições de campo. Os autores relatam que o produto ASM resultou em controle da doença, mas foi inferior a alguns tratamentos utilizados.

Quando comparamos os dados obtidos em casa de vegetação (Tabela 2) para safra 2019 com os dados de campo (Tabela 7) para safra 2019/2020 notou-se que os resultados são muito similares, em ambos os experimentos houve controle da antracnose para as duas cultivares testadas.

Ao contrário, Gutiérrez-Moreno *et al.* (2021) observaram que plantas de feijão em casa de vegetação submetidas aos tratamentos com *T. longibrachiatum* MK1 (Rifai), *T. asperellum* B6, *T. atroviride* P1 e *T. harzianum* T22 apresentavam níveis mais altos de severidade da antracnose do que as plantas cultivadas em campo aberto.

Em relação aos dados da segunda safra de experimentos, 2020/2021, constatou-se que houve maior pressão da doença (Tabela 8) quando comparamos com os dados de AACPD da safra 2019/2020 (Tabela 7). Para a cultivar IPR Tuiuiú não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos, contrário ao que foi observado na safra 2019/2020 (Tabela 8).

De maneira oposta, os dados para a cultivar IPR Quero-Quero na 2020/2021 foram relativamente similares ao da safra 2019/2020, sendo que a aplicação dos isolados de *Trichoderma*, ASM e fungicida resultaram em controle estatístico superior da doença quando comparado ao controle (Tabela 8). As condições climáticas foram favoráveis para o desenvolvimento da antracnose, fato que justifica a alta AACPD para a cultivar IPR Quero-Quero (Anexo G).

Os primeiros sintomas foram observados na primeira avaliação (Anexo B), que ocorreu juntamente com a primeira aplicação aos 26 DAE (12/12/2020), com severidade média de 0,91% para a cultivar IPR Tuiuiú e 0,61% para a cultivar IPR Quero-Quero. A máxima severidade foi de 6,71% e 12,78% para as cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, respectivamente, aos 64 DAE (23/01/2021), na última avaliação.

TABELA 8 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, safra 2020/2021. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	AACPD	
	IPR TUIUIÚ	IPR QUERO-QUERO
<i>Trichoderma asperellum</i>	98,81 ^{ns}	178,49 b*
<i>Trichoderma endophyticum</i>	103,05	189,69 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	105,5	193,45 b
<i>Trichoderma lentiforme</i>	82,42	204,22 b
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	92,17	188,66 b
<i>Trichoderma tomentosum</i>	75,21	199,18 b
<i>Trichoderma viride</i>	90,77	196,36 b
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	98,44	214,95 b
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	100,27	207,20 b
Controle	119,4	388,11 a
C.V. (%)	20,44	11,75

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

NS = não significativo.

C.V.= coeficiente de variação.

Corroborando com os dados deste estudo, Beladeli *et al.* (2021b) concluíram que a aplicação de hidróxido de cobre, trifloxistrobina-protioconazol, trifloxistrobina-tebuconazol, tiofanato-metílico, hidróxido de fentina e piraclostrobina além de *T. asperellum* foram eficientes para reduzir a severidade da antracnose e crestamento bacteriano comum em plantas da cultivar de feijão IPR Tangará quando comparados ao controle.

Duhatschek *et al.* (2017) em estudo com controle alternativo de doenças em trigo (*Triticum aestivum* L.), nas condições de campo, concluíram que o tratamento em que houve duas aplicações de fungicida sistêmico demonstrou ser o mais eficiente para controle de ferrugem (*Puccinia triticina* Erikss.), helmintosporiose [*Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker] e oídio (*Erysiphe graminis* DC.).

Ao contrário, Gabardo *et al.* (2022) mencionam que a aplicação do indutor de resistência ASM e produtos alternativos não apresentaram efeito de controle das doenças de final de ciclo [*Septoria glycines* (Hemmi) e *Cercospora kikuchii* (Matsumoto & Tomoy.)] em duas safras de cultivo de soja. Os autores ainda afirmam que o único tratamento que controlou a doença foi a aplicação de fungicida (azoxistrobina + ciproconazol) ao contrário dos resultados alcançados neste estudo, em que os produtos alternativos, o indutor de resistência e fungicida reduziram a severidade da antracnose.

Ao comparar os dados de AACPD da antracnose em casa de vegetação (Tabela 2) para o ano de 2021 com os dados de campo (Tabela 8) observou-se que para a cultivar IPR Tuiuiú os dados foram discrepantes, uma vez que na casa de vegetação houve diferenças estatísticas entre os tratamentos e no campo não foram observadas diferenças.

Para a cultivar IPR Quero-Quero na casa de vegetação os melhores tratamentos para controle da antracnose foram os isolados de *Trichoderma*, muito similares ao experimento de campo. Nas condições da casa de vegetação (Tabela 2), isolado *T. lentiforme* resultou em controle da doença ao contrário do que foi obtido em campo (Tabela 8).

Na terceira safra de cultivo, ano agrícola 2021/2022, todos os tratamentos foram capazes de controlar a antracnose nas duas cultivares testadas (Tabela 9 e Anexo C). Ao contrário do que ocorreu nas safras passadas, o aparecimento dos sintomas nas folhas foi tardio, com início na quarta avaliação aos 52 DAE para cultivar IPR Tuiuiú e na terceira avaliação aos 45 DAE para IPR Quero-Quero.

Os primeiros sintomas foram observados na segunda avaliação (Anexo C) para a cultivar IPR Quero-Quero que ocorreu juntamente com a segunda aplicação aos 36 DAE (08/01/2022), com severidade média de 0,04%. Para a cultivar IPR Tuiuiú, os sintomas iniciaram na terceira avaliação juntamente com a terceira aplicação aos 45 DAE (15/01/2022),

com severidade média de 2,02%. A máxima severidade foi de 8,95% e 12,87% para as cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, respectivamente, aos 69 DAE (01/02/2022), na última avaliação.

TABELA 9 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, safra 2021/2022. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	AACPD	
	IPR TUIUIÚ	IPR QUERO-QUERO
<i>Trichoderma asperellum</i>	61,54 b	97,71 b
<i>Trichoderma endophyticum</i>	78,52 b	106,18 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	72,61 b	112,39 b
<i>Trichoderma lentiforme</i>	67,96 b	127,37 b
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	83,67 b	107,78 b
<i>Trichoderma tomentosum</i>	60,74 b	118,29 b
<i>Trichoderma viride</i>	70,57 b	108,86 b
Acibenzolar-S-Metílico (Bion®)	74,69 b	118,45 b
Hidróxido de fentina (Mertin®)	84,87 b	112,36 b
Controle	115,86 a	187,67 a
C.V. (%)	15,95	13,46

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

C.V.= coeficiente de variação.

Tal fato está atrelado às condições climáticas, uma vez que um período de seca foi registrado na localidade FESCON (Anexo H). Foram registradas altas temperaturas, baixa precipitação e baixa umidade relativa do ar, sendo que o extremo de umidade foi de 51,5% no dia 22/11/2021.

A esporulação e infecção do hospedeiro por *C. lindemuthianum* são favorecidas por temperaturas entre 13 e 27°C para a germinação dos conídios, sendo necessária umidade relativa superior a 92%. Temperaturas acima de 28°C tendem a reduzir número e tamanho das lesões (DALLA PRIA; SILVA, 2010). Sendo assim, danos podem ocorrer na estrutura e fisiologia dos conídios e apressórios, contendo o crescimento do fungo e acima de 33°C pode não ocorrer infecção (DALLA PRIA; AMORIM; BERGAMIN FILHO, 2003; GARCIA *et al.*, 2007).

A partir da quarta avaliação, houve alta na frequência das precipitações o que ocasionou aumento na umidade relativa do ar. Essas condições favoreceram o desenvolvimento do patógeno, aumentando a severidade da doença que permaneceu alta até o fim do experimento (Anexos H e I).

Com os resultados obtidos nesta safra de cultivo ficou evidente que as espécies de *Trichoderma*, o indutor ASM e o fungicida hidróxido de fentina são eficientes para reduzir o

desenvolvimento da antracnose e consequentemente reduzir a AACPD quando comparados ao controle para as duas cultivares em estudo (Tabela 9).

Segundo Samuels e Hebbar (2015) isolados de *T. harzianum*, utilizados sozinhos ou combinados com outras espécies de *Trichoderma*, podem controlar doenças em plantas. A relação entre *Trichoderma* spp. e a planta é simbiótica e pode resultar na indução de resistência sistêmica. Essa indução ocorre mediante desencadeamento de alterações morfológicas e bioquímicas na planta, resultando em ativação de seus mecanismos de defesa contra vários patógenos. No decorrer dos anos, vários trabalhos demonstram que a resistência induzida por *Trichoderma* spp. é um mecanismo comum e importante no controle biológico de doenças (GOMES *et al.*, 2015).

No Brasil, o controle de doenças em plantas mais disseminado entre os agricultores é mediante o uso de fungicidas. Contudo, esta estratégia está cada vez menos eficaz devido ao seu mau uso, acarretando seleção de populações de patógenos resistentes às moléculas, alto risco de contaminação e aumento no custo de produção. Para a localidade FESCON, notou-se que o uso do fungicida hidróxido de fentina proporcionou redução na severidade da antracnose nas folhas das duas cultivares testadas, em todas as safras de cultivo, mas com resultado estatístico igual ou até mesmo inferior a algumas espécies de *Trichoderma*.

Desta forma, para as cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero a aplicação de esporos dos isolados *T. asperellum*, *T. endophyticum*, *T. harzianum*, *T. lentiforme*, *T. koningiopsis*, *T. tomentosum* e *T. viride*, além do indutor de resistência acibenzolar-S-metílico, podem ser uma alternativa para controle da antracnose nas condições de campo avaliadas.

Para a safra 2019/2020 a colheita foi realizada mecanicamente aos 95 DAE (14/02/2020) para a cultivar IPR Tuiuiú e aos 102 DAE (21/02/2020) para a cultivar IPR Quero-Quero. Os dados dos componentes de rendimentos obtidos, demonstraram que houve diferenças significativas apenas para a variável vagens por plantas, e que as demais, plantas por metro, grãos por vagem e produtividade, não foram afetadas com a aplicação dos diferentes tratamentos para a cultivar IPR Tuiuiú (Tabela 10).

Para a variável vagens por planta, os tratamentos *T. lentiforme*, *T. koningiopsis*, *T. tomentosum*, *T. viride*, ASM e fungicida foram estatisticamente superiores aos demais, que foram iguais aos valores observados para o controle (Tabela 10).

Os dados para a cultivar IPR Quero-Quero foram similares aos da cultivar IPR Tuiuiú, com apenas os dados para a variável vagens por planta apresentando diferenças significativas e que as demais analisadas não demonstraram respostas aos tratamentos aplicados (Tabela 10).

Para a variável vagens por planta (Tabela 10), os tratamentos *T. lentiforme*, *T. tomentosum*, *T. viride*, ASM e fungicida foram estatisticamente superiores aos demais. Os demais tratamentos foram estatisticamente iguais ao controle.

TABELA 10 - Componentes de rendimento plantas por metro (plantas m⁻¹), vagens por planta (vagens planta⁻¹), grãos por vagem (grãos vagem⁻¹) e produtividade (kg ha⁻¹) em função dos tratamentos aplicados em feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, safra 2019/2020. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.

IPR TUIUIÚ				
TRATAMENTO	PLANTAS METRO ⁻¹	VAGENS PLANTA ⁻¹	GRÃOS VAGEM ⁻¹	PRODUTIVIDADE (kg ha ⁻¹)
<i>Trichoderma asperellum</i>	13,00 ^{ns}	13,00 b*	7,00 ^{ns}	1549,77 ^{ns}
<i>Trichoderma endophyticum</i>	12,00	14,00 b	7,00	1514,80
<i>Trichoderma harzianum</i>	11,00	15,00 b	6,00	1374,90
<i>Trichoderma lentiforme</i>	12,00	17,00 a	7,00	1418,06
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	13,00	18,00 a	6,00	1691,24
<i>Trichoderma tomentosum</i>	14,00	20,00 a	7,00	1336,85
<i>Trichoderma viride</i>	11,00	19,00 a	6,00	1452,34
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	12,00	20,00 a	6,00	1281,89
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	11,00	21,00 a	6,00	1514,71
Controle	8,00	12,00 b	6,00	1339,70
C.V. (%)	12,92	15,64	9,69	18,56
IPR QUERO-QUERO				
TRATAMENTO	PLANTAS METRO ⁻¹	VAGENS PLANTA ⁻¹	GRÃOS VAGEM ⁻¹	PRODUTIVIDADE (kg ha ⁻¹)
<i>Trichoderma asperellum</i>	6,00 ^{ns}	12,00 b	6,00 ^{ns}	1065,43 ^{ns}
<i>Trichoderma endophyticum</i>	6,00	12,00 b	6,00	1398,03
<i>Trichoderma harzianum</i>	6,00	12,00 b	6,00	1091,57
<i>Trichoderma lentiforme</i>	5,00	15,00 a	6,00	1198,67
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	5,00	13,00 b	6,00	1240,74
<i>Trichoderma tomentosum</i>	5,00	15,00 a	6,00	1324,07
<i>Trichoderma viride</i>	7,00	15,00 a	6,00	1170,74
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	6,00	15,00 a	6,00	1466,57
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	7,00	15,00 a	6,00	1317,61
Controle	6,00	10,00 b	5,00	1117,84
C.V. (%)	25,48	17,52	8,54	23,18

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

NS = não significativo.

C.V.= coeficiente de variação.

A média de produtividade para a cultivar IPR Tuiuiú foi de 1.447 kg ha⁻¹, semelhante à média brasileira para feijão comum tipo preto de 1.476 kg ha⁻¹ e acima da média paranaense de 1.142 kg ha⁻¹. A média de produtividade para a cultivar IPR Quero-Quero foi de 1.239 kg ha⁻¹, abaixo da média brasileira de 1.439 kg ha⁻¹ e acima da média paranaense de 1.188 kg ha⁻¹. Para a safra 2019/2020 os resultados foram abaixo dos esperados, principalmente em razão das condições climáticas desfavoráveis registradas durante o ciclo da cultura na Região Sul, impactando negativamente nas lavouras e no rendimento da cultura (CONAB, 2020).

Ao aplicar produtos alternativos para controle da mancha angular em feijão, cultivar IPR Uirapuru, Hennipman *et al.* (2019) não obtiveram resultados significativos para produtividade no primeiro experimento na safra 2015/2016, mas para a segunda época a aplicação de *T. asperellum* e ASM resultou em produtividades acima da observada para o tratamento controle.

A aplicação de indutores de resistência, como acibenzolar-S-metílico, pode ocasionar em aumento na atividade metabólica da planta e consequentemente reduzir sua produtividade. Kuhn e Pascholati (2010) aplicaram ASM em plantas de feijão, cultivar Carioca Tybatã, para proteção contra o crestamento bacteriano (*X. axonopodis* pv. *phaseoli*) e observaram que houve redução de produção após quatro aplicações do produto, a ponto de ser inferior ao tratamento controle.

Gabardo *et al.* (2020a) ao analisar respostas fisiológicas de duas cultivares de soja após aplicação de diferentes produtos para controle de doenças fúngicas em condições de campo afirmaram que para ambas as safras em que o estudo foi conduzido (2016/2017 e 2017/2018) o uso de fungicida (azoxistrobina + benzovindiflupir) evitou danos ao rendimento da cultura. Para o estudo, notou-se que a aplicação de fungicida não foi eficaz para evitar danos ocasionados pela antracnose na produtividade de ambas cultivares para a safra 2019/2020.

Para a safra 2020/2021 não foi possível realizar a colheita da cultivar IPR Quero-Quero, uma vez que a área foi perdida devido à problemas com plantas daninhas. Com relação aos componentes de rendimento para a cultivar IPR Tuiuiú, a colheita ocorreu mecanicamente aos 97 DAE (22/02/2021) e não foram identificadas diferenças estatísticas para as variáveis avaliadas (Tabela 11).

A média de produtividade para a cultivar IPR Tuiuiú foi de 2.056,70 kg ha⁻¹, superior às médias brasileira de 1.315 kg ha⁻¹ e paranaense de 1.352 kg ha⁻¹, para a safra 2020/21 para feijão tipo preto (CONAB, 2021).

Frasca *et al.* (2020) não observaram diferenças estatísticas para as variáveis número de vagens, número de grãos por vagem e produtividade após aplicação foliar de *T. asperellum* em plantas de feijão da cultivar FC-104, do grupo comercial carioca.

Para a última safra de experimentos (2021/2022), a colheita ocorreu de forma mecânica aos 105 DAE (09/03/2022) para a cultivar IPR Tuiuiú e aos 125 DAE (29/03/2022) para a cultivar IPR Quero-Quero. Não foram observadas diferenças estatísticas entre as variáveis analisadas (Tabela 12) em ambas cultivares. A média de produtividade média da cultivar IPR Tuiuiú foi de 2.179 kg ha⁻¹, acima das médias brasileira e paranaense de 1.543 e 1.691 kg ha⁻¹, respectivamente. Já para a cultivar IPR Quero-Quero a média de produção foi de

1.377 kg ha⁻¹, abaixo das médias brasileira e paranaense, com 1.590 e 1.818, respectivamente (CONAB, 2022).

TABELA 11 - Componentes de rendimento plantas por metro (plantas m⁻¹), vagens por planta (vagens planta⁻¹), grãos por vagem (grãos vagem⁻¹) e produtividade (kg ha⁻¹) em função dos tratamentos aplicados em feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivar IPR Tuiuiú, safra 2020/2021. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	PLANTAS METRO ⁻¹	VAGENS PLANTA ⁻¹	GRÃOS VAGEM ⁻¹	PRODUTIVIDADE (kg ha ⁻¹)
<i>Trichoderma asperellum</i>	10,00 ^{ns}	11,00 ^{ns}	7,00 ^{ns}	2298,95 ^{ns}
<i>Trichoderma endophyticum</i>	9,00	9,00	6,00	1772,06
<i>Trichoderma harzianum</i>	8,00	9,00	6,00	1931,13
<i>Trichoderma lentiforme</i>	9,00	8,00	6,00	1603,51
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	10,00	10,00	6,00	2208,73
<i>Trichoderma tomentosum</i>	8,00	10,00	6,00	2096,20
<i>Trichoderma viride</i>	8,00	8,00	6,00	1563,27
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	9,00	11,00	6,00	2503,61
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	10,00	9,00	6,00	2395,26
Controle	10,00	9,00	6,00	2194,24
C.V. (%)	12,66	10,81	8,41	24,07

Fonte: A autora.

Notas: NS = não significativo pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

C.V.= coeficiente de variação.

Observou-se que em todas as safras em que foram conduzidos experimentos (2019/2020, 2020/2021 e 2021/2022) a cultivar IPR Quero-Quero foi altamente suscetível ao fungo *C. lindemuthianum*, pois os dados de severidade foram maiores quando comparados aos dados para a cultivar IPR Tuiuiú (Anexo A, B e C). Tal fato explica a redução em produtividade da cultura quando se compara dados de ambas cultivares nas mesmas condições de cultivo.

Além do controle de doenças, a aplicação foliar de *Trichoderma* spp. pode ser empregada nos sistemas produtivos com intuito de melhorar o desenvolvimento agrônomo e a produtividade do feijão, além de reduzir os custos e aumentar a viabilidade da cultura (OLIVEIRA *et al.*, 2015). Tais fungos sapróbios também se enquadram como bioestimulantes, que são definidos como substâncias sintéticas, naturais e/ou microrganismos que estimulam a absorção e eficiência de nutrientes, consequentemente aumentando produtividade da cultura na qual são utilizados (SILVA *et al.*, 2016). É evidente que o uso de bioestimulantes, como *Trichoderma* spp., traz inúmeros benefícios às plantas promovendo aumento na produtividade além do controle de doenças (CHAUDHARY *et al.*, 2021).

TABELA 12 - Componentes de rendimento plantas por metro (plantas m⁻¹), vagens por planta (vagens planta⁻¹), grãos por vagem (grãos vagem⁻¹) e produtividade (kg ha⁻¹) em função dos tratamentos aplicados em feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, safra 2021/2022. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.

IPR TUIUIÚ				
TRATAMENTO	PLANTAS METRO ⁻¹	VAGENS PLANTA ⁻¹	GRÃOS VAGEM ⁻¹	PRODUTIVIDADE (kg ha ⁻¹)
<i>Trichoderma asperellum</i>	11,00 ^{ns}	14,00 ^{ns}	7,00 ^{ns}	2105,08 ^{ns}
<i>Trichoderma endophyticum</i>	12,00	13,00	7,00	2.257,90
<i>Trichoderma harzianum</i>	12,00	15,00	6,00	2.186,63
<i>Trichoderma lentiforme</i>	12,00	14,00	7,00	1.977,85
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	12,00	13,00	6,00	2.068,03
<i>Trichoderma tomentosum</i>	13,00	13,00	6,00	2.218,62
<i>Trichoderma viride</i>	12,00	13,00	7,00	2.408,45
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	14,00	15,00	6,00	2.171,05
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	12,00	14,00	6,00	2.386,35
Controle	9,00	10,00	5,00	2.010,43
C.V. (%)	15,46	18,10	9,78	25,44
IPR QUERO-QUERO				
TRATAMENTO	PLANTAS METRO ⁻¹	VAGENS PLANTA ⁻¹	GRÃOS VAGEM ⁻¹	PRODUTIVIDADE (kg ha ⁻¹)
<i>Trichoderma asperellum</i>	13,00 ^{ns}	15,00 ^{ns}	6,00 ^{ns}	1.369,38 ^{ns}
<i>Trichoderma endophyticum</i>	12,00	14,00	6,00	1.391,73
<i>Trichoderma harzianum</i>	12,00	14,00	6,00	1.448,80
<i>Trichoderma lentiforme</i>	12,00	14,00	6,00	1.164,65
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	13,00	15,00	6,00	1.561,55
<i>Trichoderma tomentosum</i>	12,00	14,00	6,00	1.239,15
<i>Trichoderma viride</i>	11,00	14,00	6,00	1.410,30
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	12,00	13,00	6,00	1.417,05
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	11,00	11,00	7,00	1.231,53
Controle	11,00	13,00	6,00	1.531,48
C.V. (%)	19,35	28,03	12,98	25,93

Fonte: A autora.

Notas: NS = não significativo pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

C.V.= coeficiente de variação.

5.3.2 Unidade Demonstrativa Experimental Oscar Rickli

Os dados de AACPD para a UDE Oscar Rickli demonstram que a aplicação das diferentes espécies de *Trichoderma* spp., além do indutor de resistência e do fungicida foram eficientes para reduzir o desenvolvimento da antracnose na cultivar IPR Tuiuiú (Tabela 13), na safra 2019/2020.

Os primeiros sintomas foram observados na quinta avaliação (Anexo D), que ocorreu aos 44 DAE (07/03/2020), com severidade média de 0,06% para a cultivar IPR Tuiuiú. A máxima severidade foi de 6,45% aos 72 DAE (11/04/2020), na última avaliação.

Os tratamentos com as diferentes espécies de *Trichoderma* (*T. asperellum*, *T. endophyticum*, *T. harzianum*, *T. lentiforme*, *T. koningiopsis*, *T. tomentosum* e *T. viride*) foram estatisticamente iguais aos tratamentos que receberam aplicação do ASM e do fungicida

hidróxido de fentina. Com esses resultados, evidenciam que o uso de fontes alternativas para controle de doenças pode resultar em eficiência igual ou superior àquela obtida com o uso de fungicidas ou outros produtos químicos (Tabela 13). Não foi possível anexar as condições climáticas durante a condução deste estudo, uma vez que a Fundação ABC (TSUKAHARA *et al.*, 2022) não possui estação meteorológica neste município.

TABELA 13 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) e produtividade (kg ha⁻¹) de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivar IPR Tuiuiú em campo, safra 2019/2020. Unidade Demonstrativa Experimental Oscar Rickli. Prudentópolis – PR, 2022.

TRATAMENTO	AACPD	PRODUTIVIDADE (kg ha ⁻¹)
<i>Trichoderma asperellum</i>	31,24 b*	2882,00 a
<i>Trichoderma endophyticum</i>	30,01 b	2502,75 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	27,39 b	2690,25 a
<i>Trichoderma lentiforme</i>	28,44 b	2730,50 a
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	31,06 b	3055,50 a
<i>Trichoderma tomentosum</i>	36,58 b	2955,75 a
<i>Trichoderma viride</i>	32,38 b	2723,50 a
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	31,10 b	2443,00 a
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	34,13 b	2704,25 a
Controle	64,05 a	1534,75 b
C.V. (%)	10,98	13,00

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

C.V.= coeficiente de variação.

Em estudo realizado a campo, Mbazia, Youssef e Kharrrat (2016) relataram que plantas de feijão fava (*Vicia faba* L.) que receberam tratamento foliar com *T. viride*, *T. harzianum*, *Bacillus subtilis* (Cohn) e fungicida (carbendazim) sofreram menos danos com a doença mancha de chocolate [*Botrytis fabae* (Sard.)] quando comparado ao tratamento controle. O controle biológico de doenças em feijão representa uma alternativa promissora para manter sua viabilidade e produtividade (SILVA *et al.*, 2021a).

A colheita do experimento ocorreu no dia 18 de abril de 2020, aos 86 DAE. Os componentes de rendimento plantas por metro, vagens por planta e grãos por vagem não foram quantificados para este experimento. Para mensuração da produtividade, foram colhidas as plantas centrais de cada parcela, descartando a bordadura, as quais foram trilhadas e pesadas (Tabela 13).

Foram observadas diferenças estatísticas entre o controle e os demais tratamentos, demonstrando que a aplicação dos tratamentos, indiferente do método utilizado, controlou a antracnose e influenciou na produtividade de feijão da cultivar IPR Tuiuiú (Tabela 13). A produtividade média observada no experimento foi de 2.622,23 kg ha⁻¹, acima das médias

brasileira e paranaense para feijão comum tipo preto, com 1.476 e 1.142 kg ha⁻¹ respectivamente (CONAB, 2020).

Silva *et al.* (2021b) afirmam que a aplicação dos isolados *T. harzianum* ESALQ-1306 e *T. asperellum* BRM-29104 tiveram a capacidade de controlar o fungo *S. sclerotiorum*, reduzir a severidade do mofo-branco fazendo com que a produtividade de feijão, cultivar Pérola, não fosse reduzida nas condições de campo do cerrado brasileiro em que o estudo foi conduzido.

Tais resultados corroboram com os obtidos no estudo, pois as espécies de *Trichoderma* foram capazes de controlar o fungo *C. lindemuthianum* e não houve redução de produtividade para a cultivar IPR Tuiuiú, nas condições de campo no município de Prudentópolis, safra 2019/2020.

A eficiência de controle do fungicida hidróxido de fentina foi estatisticamente igual às espécies de *Trichoderma*, demonstrando que o uso de tal método de controle pode ser eficiente (Tabela 13). A aplicação de fungicidas pode manter a alta produtividade e a qualidade dos grãos de feijão, mas não controlaram totalmente a doença e elevam os custos de produção (BOERSMA *et al.*, 2020). Vários fungicidas são tóxicos para animais, incluindo os humanos, e para organismos não alvos, além de riscos com contaminação ambiental e comprometimento da segurança alimentar (DUKARE *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2020).

5.3.3 Fazenda Xaxim

Na primeira época de semeadura (04/09/2020) da Fazenda Xaxim, com a cultivar IPR Tuiuiú, não foi detectada a incidência do fungo *C. lindemuthianum*, portanto não foi possível avaliar a severidade da antracnose. As condições climáticas da área, localizada no município de Teixeira Soares – PR, não foram favoráveis para o patógeno, com temperaturas altas e baixa umidade relativa do ar, condições adversas aquelas necessárias para crescimento e desenvolvimento do fungo. Durante o período em que a cultura esteve a campo (de 04/09 a 26/12/2020) a temperatura média foi de 20,07°C, umidade relativa média de 73,42% e baixa precipitação (Anexo J).

Para a segunda época de semeadura (12/01/2021), foram detectados sintomas da antracnose desde a primeira avaliação, que foi realizada previamente à primeira aplicação no dia 06/02/2021, aos 20 DAE, com severidade média de 0,75%. A máxima severidade foi de 5,64% aos 55 DAE (06/03/2021), na última avaliação (Anexo E).

A ocorrência da doença no início do desenvolvimento da cultura pode estar atrelada ao fato de que as precipitações foram frequentes, resultando em condições favoráveis para o

desenvolvimento da doença (Anexo J). Os dados de AACPD demonstraram que houveram diferenças estatísticas entre os tratamentos utilizados (Tabela 14). Os tratamentos *T. asperellum*, *T. endophyticum*, *T. harzianum*, *T. koningiopsis* e fungicida resultaram em menores AACPD e consequentemente controle da doença quando comparados aos demais.

A eficiência agronômica dos isolados de *Trichoderma* também é dependente da adaptação dos microrganismos às condições ambientais. Por isso, a seleção de linhagens para composição de bioprodutos agrícolas deve levar em conta as especificidades e particularidades de clima das diferentes regiões onde se deseja utilizar o bioproduto (STEFFEN *et al.*, 2020). Tal fato, justifica a importância da condução de experimentos em diferentes localidades, seguindo o exemplo do estudo o qual foi conduzido em três municípios diferentes.

Liton *et al.* (2019) afirmam que a aplicação de *T. harzianum* juntamente com esterco de aves foi capaz de reduzir o desenvolvimento dos fungos *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *R. solani* e *Sclerotium rolfsii* (Sacc.) e suprimir o desenvolvimento das doenças de caule, além de proporcionar aumento no crescimento e produtividade de feijão.

TABELA 14 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivar IPR Tuiuiú em campo, safra 2020/21. Fazenda Xaxim, Teixeira Soares – PR, 2022.

TRATAMENTO	AACPD
<i>Trichoderma asperellum</i>	38,67 b*
<i>Trichoderma endophyticum</i>	28,91 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	46,91 b
<i>Trichoderma lentiforme</i>	77,92 a
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	48,14 b
<i>Trichoderma tomentosum</i>	74,66 a
<i>Trichoderma viride</i>	65,26 a
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	64,65 a
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	49,16 b
Controle	92,26 a
C.V. (%)	44,20

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

C.V.= coeficiente de variação.

A quantificação dos componentes de rendimento e a colheita do experimento realizado na primeira época ocorreu no dia 26 de dezembro de 2020, aos 106 DAE e não foram encontradas diferenças estatísticas para as variáveis analisadas (Tabela 14). Já para a segunda época, a colheita ocorreu no dia 20 de abril de 2021, aos 93 DAE e foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis plantas por metro, vagens por planta e produtividade.

Para plantas por metro, o menor valor foi observado no tratamento ASM, o qual foi estatisticamente inferior aos demais (Tabela 14). As maiores médias de vagens por planta foram constadas nas plantas que receberam a aplicação de *T. asperellum* e fungicida hidróxido de fentina, sendo este tratamento o que resultou na maior produtividade do experimento, com média de 4.332,10 kg ha⁻¹, estatisticamente superior aos demais tratamentos (Tabela 15).

A produtividade média da primeira época de semeadura para a cultivar IPR Tuiuiú foi de 3.870,13 kg ha⁻¹ e para a segunda época a média foi de 2.074,45 kg ha⁻¹ (Tabela 15). A média de vagens por planta também foi afetada quando houve incidência do patógeno, com média de 20 vagens por planta para a primeira época e de 9 vagens por planta para a segunda época de semeadura. As condições climáticas na segunda época de semeadura foram favoráveis para o desenvolvimento da antracnose, ocasionando redução significativa da produção (Anexo J).

TABELA 15 - Componentes de rendimento plantas por metro (plantas m⁻¹), vagens por planta (vagens planta⁻¹), grãos por vagem (grãos vagem⁻¹) e produtividade (kg ha⁻¹) em função dos tratamentos aplicados em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivar IPR Tuiuiú, em duas épocas de semeadura, safra 2020/21. Fazenda Xaxim, Teixeira Soares – PR, 2022.

PRIMEIRA ÉPOCA				
TRATAMENTO	PLANTAS METRO ⁻¹	VAGENS PLANTA ⁻¹	GRÃOS VAGEM ⁻¹	PRODUTIVIDADE (kg ha ⁻¹)
<i>Trichoderma asperellum</i>	12,00 ^{ns}	22,00 ^{ns}	5,00 ^{ns}	3832,72 ^{ns}
<i>Trichoderma endophyticum</i>	11,00	21,00	6,00	3924,69
<i>Trichoderma harzianum</i>	11,00	21,00	5,00	4425,31
<i>Trichoderma lentiforme</i>	12,00	19,00	5,00	3932,10
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	12,00	18,00	5,00	3762,35
<i>Trichoderma tomentosum</i>	12,00	21,00	5,00	3898,15
<i>Trichoderma viride</i>	11,00	21,00	5,00	3757,41
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	12,00	18,00	5,00	3662,96
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	12,00	21,00	5,00	3801,24
Controle	11,00	20,00	5,00	3704,32
C.V. (%)	6,68	10,83	6,06	9,24
SEGUNDA ÉPOCA				
TRATAMENTO	PLANTAS METRO ⁻¹	VAGENS PLANTA ⁻¹	GRÃOS VAGEM ⁻¹	PRODUTIVIDADE (kg ha ⁻¹)
<i>Trichoderma asperellum</i>	10,00 a*	10,00 a	5,00 ^{ns}	1845,68 b
<i>Trichoderma endophyticum</i>	11,00 a	9,00 b	5,00	1791,36 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	12,00 a	9,00 b	5,00	1693,21 b
<i>Trichoderma lentiforme</i>	11,00 a	9,00 b	5,00	1845,06 b
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	11,00 a	7,00 b	5,00	2091,36 b
<i>Trichoderma tomentosum</i>	11,00 a	7,00 b	6,00	1750,62 b
<i>Trichoderma viride</i>	10,00 a	8,00 b	6,00	1869,76 b
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	8,00 b	8,00 b	5,00	1671,61 b
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	12,00 a	13,00 a	6,00	4332,10 a
Controle	10,00 a	8,00 b	5,00	1853,71 b
C.V. (%)	9,55	20,82	11,88	12,63

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

NS = não significativo.

C.V.= coeficiente de variação.

Segundo Kumar *et al.* (2021) a aplicação das espécies *T. viride* e *Trichoderma erinaceum* (Bissett, C.P. Kubicek & Szakacs) resultou nos maiores registros de componentes de rendimento nas plantas de feijão. Os autores ainda concluíram que essas espécies de *Trichoderma* podem ser efetivamente utilizadas como alternativa no controle do mofo branco (*S. sclerotiorum*). Esses dados contrariam aos obtidos neste estudo, uma vez que os componentes de rendimento vagens por planta e produtividade para a Fazenda Xaxim, na safra 2020/2021, foram estatisticamente inferiores às plantas que receberam aplicação do fungicida.

Em geral, ao comparar as três localidades de cultivo, observou-se que para as localidades de FESCON (Ponta Grossa – PR) e UDE Oscar Rickli (Prudentópolis – PR) houve redução da severidade da antracnose e as espécies de *Trichoderma* se destacaram como alternativas de controle, mas para a localidade Fazenda Xaxim (Teixeira Soares – PR) não foram observadas diferenças entre os tratamentos.

5.4 QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES

A realização dos testes de sanidade de sementes são indicativos indispensáveis para a garantia da saúde dos vegetais, redução nos custos de produção, aumento na produtividade e na qualidade do produto (MAPA, 1999).

Após condução e avaliação do teste de incubação em rolo de papel (MAPA, 2009), observou-se que houve incidência de antracnose nas sementes colhidas na FESCON para as duas cultivares utilizadas nas três safras, apesar da aplicação de produtos para controle foliar da doença (Tabela 16).

Na safra 2019/2020, a maior incidência de *C. lindemuthianum* para a cultivar IPR Tuiuiú foi observada para as sementes colhidas no tratamento controle, com diferença estatística dos demais tratamentos (Tabela 16). Para a cultivar IPR Quero-Quero, todos os tratamentos apresentaram menores incidências do patógeno nas sementes quando comparados ao controle. As aplicações foliares com *Trichoderma*, independente da espécie, resultaram nas menores incidências.

Ressalta-se a importância do controle foliar da antracnose em feijão, pois a incidência do patógeno em sementes oriundas de plantas que receberam controle foliar da doença foi 58,08 e 58,40% menor para a cultivar IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, respectivamente, comparado ao tratamento controle na safra 2020/2021.

TABELA 16 - Incidência (%) de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes após teste de patologia em função da aplicação dos produtos em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em condições de campo, safras 2019/2020, 2020/2021 e 2021/2022. Fazenda Escola Capão da Onça, Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	SAFRA 2019/2020		SAFRA 2020/2021		SAFRA 2021/2022	
	IPR TUIUIÚ	IPR QUERO- QUERO	IPR TUIUIÚ	IPR TUIUIÚ	IPR QUERO- QUERO	
<i>Trichoderma asperellum</i>	11,00 b*	14,50 c	16,50 ^{ns}	3,00 c	36,50 b	
<i>Trichoderma endophyticum</i>	9,50 b	16,00 c	15,00	13,00 b	27,50 b	
<i>Trichoderma harzianum</i>	11,50 b	15,50 c	18,50	11,50 b	27,50 b	
<i>Trichoderma lentiforme</i>	12,50 b	15,50 c	13,00	5,00 c	25,50 b	
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	16,00 b	16,00 c	12,50	10,00 b	28,50 b	
<i>Trichoderma tomentosum</i>	14,50 b	17,00 c	19,00	11,50 b	33,00 b	
<i>Trichoderma viride</i>	14,50 b	17,00 c	15,50	18,50 a	36,00 b	
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	16,00 b	26,50 b	11,00	12,50 b	51,00 a	
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	19,00 b	23,00 b	17,00	12,00 b	38,50 b	
Controle	33,00 a	43,00 a	21,50	16,50 a	58,00 a	
C.V. (%)	19,88	13,07	16,43	14,21	13,67	

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

NS = não significativo.

Dados originais, para análise foram transformados em $\arcsin \sqrt{x/100}$.

C.V.= coeficiente de variação.

Para a safra 2020/2021 (Tabela 16), foi realizada a quantificação da incidência de *C. lindemuthianum* apenas para as sementes da cultivar IPR Tuiuiú, uma vez que não foi possível realizar a colheita da cultivar IPR Quero-Quero. Houve incidência de *C. lindemuthianum* nas sementes, mas não foram observadas diferenças estatísticas entre aos tratamentos.

Na última safra (2021/2022) houve incidência do patógeno nas sementes, sendo que a aplicação foliar com *T. asperellum* e *T. lentiforme* resultaram em menores porcentagens de sementes infectadas, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos para a cultivar IPR Tuiuiú (Tabela 16). Sementes oriundas dos tratamentos *T. endophyticum*, *T. harzianum*, *T. koningiopsis*, *T. tomentosum*, ASM e fungicida tiveram incidência do patógeno, mas foram inferiores ao controle. Dados semelhantes foram obtidos para a cultivar IPR Quero-Quero, com todos os tratamentos resultando em menores incidências em relação ao controle, exceto ASM que foi igual à testemunha (Tabela 16).

No Brasil há um grande problema com as sementes comerciais de feijão, uma vez que sua taxa de utilização é baixa. A maioria dos produtores utilizam sementes próprias, ditas como “salvas”, pois são produzidas como grãos e utilizadas como sementes, gerando produtividade média baixa e problemas fitossanitários (MENTEN *et. al.*, 2006).

A transmissão de *C. lindemuthianum* da semente para a plântula de feijão está em torno de 70-80% e que há possibilidade de o patógeno interferir negativamente no sistema radicular

da planta. Quando são utilizadas sementes infectadas, mesmo que com níveis baixos de incidência, elas são consideradas como fontes de inóculo primário (REY *et al.*, 2009).

Além dos problemas sanitários, as sementes salvas possuem qualidade fisiológica inferior às comerciais. Santos, Silveira e Jamhour (2019) afirmam que o armazenamento das sementes salvas é precário nas propriedades rurais e que na maioria eram armazenadas em barracões, juntamente com outros insumos, roedores, sem qualquer controle de temperatura e umidade, em contato direto com o chão e os locais eram quentes e úmidos. Os autores ao compararem sementes salvas e comerciais afirmam que a qualidade fisiológica das sementes certificadas sobressai as salvas.

Para a UDE Oscar Rickli houve incidência de *C. lindemuthianum* nas sementes para a safra 2019/2020 (Tabela 17). As maiores incidências foram observadas nos tratamentos que receberam aplicação foliar do fungicida hidróxido de fentina e nas sementes oriundas do controle sem aplicação, os quais diferiram estatisticamente dos demais.

O fungo *C. lindemuthianum* é classificado com uma praga não quarentenária regulamentável. Esse conceito foi adotado pela portaria 71 de 1999 do Ministério da Agricultura com nível de tolerância zero para que um lote seja considerado semente e não grão, uma vez que se trata de uma praga de alto risco (MAPA, 1999). Tendo em consideração uma semeadura com 400.000 sementes por hectare, com incidência de 0,25% de *C. lindemuthianum* nas sementes, poderá resultar na introdução de 1.000 focos primários do patógeno na área (MACHADO, 1994).

TABELA 17 – Incidência (%) de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes após teste de patologia em função da aplicação dos produtos em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivar IPR Tuiuiú em condições de campo, safra 2019/2020. Unidade Demonstrativa Experimental Oscar Rickli. Prudentópolis – PR, 2022.

TRATAMENTO	INCIDÊNCIA
<i>Trichoderma asperellum</i>	3,50 b*
<i>Trichoderma endophyticum</i>	1,50 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	3,50 b
<i>Trichoderma lentiforme</i>	1,50 b
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	1,50 b
<i>Trichoderma tomentosum</i>	2,00 b
<i>Trichoderma viride</i>	1,50 b
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	2,50 b
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	5,50 a
Controle	11,50 a
C.V. (%)	62,10

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Dados originais, para análise foram transformados em $\arcsin \sqrt{x/100}$.

C.V.= coeficiente de variação.

No entanto, a alta incidência de *C. lindemuthianum* nas sementes pode ser insignificante, do ponto de vista epidemiológico, para utilização em regiões com predomínio de temperaturas altas e baixa umidade relativa (FREITAS, 1993 citado por REY *et al.*, 2009).

Para a Fazenda Xaxim, mesmo não ocorrendo incidência da antracnose na parte aérea das plantas de feijão da cultivar IPR Tuiuiú, as sementes foram colhidas e submetidas ao teste de rolo para quantificação da incidência de *C. lindemuthianum* (Tabela 18). Houve baixa incidência nas sementes dos tratamentos que receberam aplicação foliar dos isolados *T. asperellum* e *T. tomentosum*, mas não foram identificadas diferenças estatísticas com os demais.

Para a segunda época de semeadura, quando houve incidência e severidade do patógeno com desenvolvimento acumulado expressivo da antracnose (Tabela 14), observou-se que houve maior incidência do patógeno nas sementes, mas não foram constatadas diferenças estatísticas entre os tratamentos (Tabela 18).

O principal método de disseminação da antracnose são as sementes, por isso a realização de testes de sanidade, como o método de incubação em rolo de papel, é de extrema importância. Montemor *et al.* (2012) testaram sementes de diferentes lotes de feijão tipo preto do Estado de Santa Catarina e observaram alta incidência de *C. lindemuthianum*. Os autores sugerem adoção de medidas de controle visando reduzir a incidência do patógeno nas sementes.

TABELA 18 - Incidência (%) de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes após teste de patologia em função da aplicação dos produtos em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivar IPR Tuiuiú em condições de campo, em duas épocas de semeadura, safra 2020/2021. Fazenda Xaxim, Teixeira Soares – PR, 2022.

TRATAMENTO	INCIDÊNCIA	
	PRIMEIRA ÉPOCA	SEGUNDA ÉPOCA
<i>Trichoderma asperellum</i>	0,50 ^{ns}	8,00 ^{ns}
<i>Trichoderma endophyticum</i>	0,00	11,00
<i>Trichoderma harzianum</i>	0,00	8,00
<i>Trichoderma lentiforme</i>	0,00	6,50
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	0,00	11,50
<i>Trichoderma tomentosum</i>	0,50	9,00
<i>Trichoderma viride</i>	0,00	7,00
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	0,00	7,50
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	0,00	6,50
Controle	0,00	7,00
C.V. (%)	26,51	23,99

Fonte: A autora.

Notas: (*) Dados originais, para análise foram transformados em $\sqrt{(x + 0,5)/100}$.

NS = não significativo pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

C.V.= coeficiente de variação.

5.5 FASEOLINA

As plantas produzem metabólitos secundários para a autodefesa e entre eles temos as fitoalexinas [fiton = planta/alexina = repelente], que são compostos fenólicos capazes de inibir

os microrganismos que atacam as plantas e não são encontrados em plantas saudáveis, uma vez que são sintetizados após infecção, lesão ou por estímulos de algumas secreções fúngicas (TAIZ *et al.*, 2017).

As fitoalexinas mais estudadas são as deoxiantocianidinas em sorgo, gliceolina em soja e a faseolina em feijão (SOLINO *et al.*, 2017; TELAXKA *et al.*, 2018), que geralmente estão relacionadas com a redução na severidade de doenças em plantas.

A quantificação de faseolina após aplicação dos tratamentos demonstrou que foram observadas diferenças estatísticas para as cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero (Tabela 19).

Para a cultivar IPR Tuiuiú a maior quantificação da faseolina, expressa em unidades de absorvância por grama de peso fresco (ABS g fw⁻¹), foi observada para o tratamento que recebeu aplicação do isolado *T. tomentosum* (0,67 ABS g fw⁻¹) com diferença significativa dos demais (Tabela 19). A segunda melhor quantificação foi observada para o isolado *T. viride*, seguido pelo fungicida hidróxido de fentina, ASM e os demais tratamentos foram estatisticamente iguais ao controle.

TABELA 19 - Acúmulo de faseolina em unidades de absorvância por grama de peso fresco (ABS g fw⁻¹), em hipocótilos de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, em função da aplicação dos produtos em condições de laboratório. Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	FASEOLINA	
	IPR TUIUIÚ	IPR QUERO-QUERO
<i>Trichoderma asperellum</i>	0,38 e*	0,38 f
<i>Trichoderma endophyticum</i>	0,36 e	0,42 d
<i>Trichoderma harzianum</i>	0,38 e	0,44 c
<i>Trichoderma lentiforme</i>	0,39 e	0,47 b
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	0,41 e	0,36 g
<i>Trichoderma tomentosum</i>	0,67 a	0,62 a
<i>Trichoderma viride</i>	0,60 b	0,61 a
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	0,44 d	0,38 f
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	0,47 c	0,41 e
Controle	0,40 e	0,35 g
C.V. (%)	5,06	2,81

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

C.V.= coeficiente de variação.

Dados semelhantes foram observados para a cultivar IPR Quero-Quero (Tabela 19), com as maiores quantificações de faseolina observadas para os tratamentos *T. tomentosum* e *T. viride* (0,62 e 0,61 ABS g fw⁻¹, respectivamente). Todos os isolados de *Trichoderma*, o indutor de resistência ASM e o fungicida hidróxido de fentina foram eficientes para aumentar a produção de faseolina quando comparados ao controle (Tabela 19).

Dilley (2017) utilizou a espécie *T. longibrachiatum* em diferentes formas e concluiu que elas foram capazes de induzir a síntese de faseolina e a atividade enzimática de peroxidase, polifenoloxidase e β -1,3 glucanase.

Algumas espécies de fungos saprófitos possuem moléculas capazes de aumentar o acúmulo de faseolina em plântulas de feijão (SOLINO *et al.*, 2017). Os mesmos autores utilizaram diferentes fungos saprófitas em concentrações variadas e notaram que houve aumento médio de 8,5 vezes na concentração de faseolina nos hipocótilos de feijão comparados ao controle e 1,76 vezes maior que a aplicação de acibenzolar-S-metílico.

Esses dados corroboram com os obtidos neste estudo, em que a aplicação das espécies *T. tomentosum* e *T. viride* apresentaram acúmulo de fitoalexina superior ao controle e ao ASM para ambas cultivares testadas (Tabela 19).

Fitoalexinas são produtos naturais de baixo peso molecular que são sintetizados pelas células das plantas em resposta a infecções microbianas, com a habilidade de interferir no desenvolvimento do patógeno (POZZA JUNIOR *et al.*, 2021). Atualmente, a importância das fitoalexinas em uma interação de defesa planta-patógeno também é reconhecida como um produto químico natural para mediar as interações dos organismos (KOMIVES, KIRALY, 2019).

As infecções microbianas que resultam no acúmulo de fitoalexinas podem partir de microrganismos não patogênicos, como é o caso de *Trichoderma* spp. Esses fungos desencadeiam o acúmulo de fitoalexinas, faseolina no caso deste estudo, e fazem com que planta já tenha níveis altos de metabólitos e se autodefenda de microrganismos patogênicos mais rapidamente.

5.6 ANÁLISE ENZIMÁTICA

5.6.1 Peroxidase de guaiacol (E.C. 1.11.1.7)

A peroxidase é uma enzima importante nas plantas e está veiculada em diversas ligações, como ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de fenóis, defesa de patógenos, regulação na elongação de células e outras (CAMPOS *et al.*, 2004).

Esta é a principal enzima produtora de H_2O_2 em cultura de células do feijão e está localizada no apoplasto ou parede celular dos vegetais. Além de precursora de H_2O_2 , a peroxidase é classificada como PR-proteína (proteína relacionada à patogênese) e associada

com a lignificação e reforço da parede celular (O'BRIEN *et al.*, 2012; CAMEJO; GUZMÁN-CEDEÑO; MORENO, 2016).

A quantificação de peroxidase de guaiacol foi realizada de duas formas, apenas com o tratamento das sementes (Tabela 1) e coleta das folhas das plântulas sete dias após o tratamento e com a inoculação das plântulas sete dias após a semeadura com o fungo *C. lindemuthianum*.

Constatou-se que a aplicação dos isolados *T. asperellum*, *T. endophyticum* e do indutor ASM resultaram em redução nos índices de peroxidase de guaiacol nas folhas das plântulas sete dias após o tratamento das sementes, uma vez que esses tratamentos tiveram acúmulo menor do que o tratamento controle para a cultivar IPR Tuiuiú (Tabela 20).

Os maiores acúmulos foram observados nos tratamentos que receberam a aplicação dos isolados *T. harzianum*, *T. lentiforme*, *T. koningiopsis*, *T. tomentosum* e *T. viride*, que não diferiram estatisticamente do controle (Tabela 20). Para a cultivar IPR Quero-Quero não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para esta coleta.

TABELA 20 - Acúmulo de peroxidase de guaiacol expressa em unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS g fw⁻¹), em folhas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, sete dias após o tratamento de sementes com produtos. Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	PEROXIDASE	
	IPR TUIUIÚ	IPR QUERO-QUERO
<i>Trichoderma asperellum</i>	32,83 b*	60,68 ^{ns}
<i>Trichoderma endophyticum</i>	15,55 b	59,80
<i>Trichoderma harzianum</i>	52,15 a	65,73
<i>Trichoderma lentiforme</i>	72,98 a	68,45
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	63,55 a	76,90
<i>Trichoderma tomentosum</i>	75,50 a	63,25
<i>Trichoderma viride</i>	61,73 a	76,45
Acibenzolar-S-Metílico (Bion®)	33,15 b	70,55
Hidróxido de fentina (Mertin®)	78,38 a	70,65
Controle	75,15 a	80,05
C.V. (%)	36,17	18,26

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

NS = não significativo.

C.V.= coeficiente de variação.

Dildey *et al.* (2016) quantificaram a atividade de enzimas após tratamento de sementes de feijão (cultivar IAPAR 81) com 21 diferentes isolados de *Trichoderma*, entre eles as espécies *T. harzianum* e *T. koningiopsis*, e 30 dias após a emergência da cultura não foram observadas diferenças entre os isolados e o tratamento controle para a atividade da peroxidase. Mesmo sem diferenças estatísticas entre os isolados, os autores observaram uma tendência de supressão pelos isolados TM1, TM4, TLB15 (*T. virens*), TOD2A (*T. longibrachiatum*) e TOD3 (*T. harzianum*) na expressão da atividade da peroxidase no tecido foliar de plantas de feijão, em

relação ao controle. O mesmo resultado pode ser observado neste trabalho, no qual a maioria os isolados utilizados resultou em atividade enzimática inferior ao controle (Tabela 20).

A aplicação de *Trichoderma* spp. é uma alternativa para aumento enzimático em várias culturas. O tratamento de plantas de alface com suspensão de esporos de *T. asperellum* T1 induziu as enzimas relacionadas à defesa, como peroxidase, polifenoloxidase, β -1,3-glucanase e quitinase. As atividades dessas enzimas foram maiores as 24 e 48 horas após aplicação foliar do que no tratamento controle (BAIYEEA; ITO; SUNPAPAO, 2019)

Após aplicação do indutor em folhas de feijão, cultivar BRS Majestoso em condições de casa de vegetação, Gadaga *et al.* (2017) relataram que a atividade da peroxidase teve seu ápice aos seis dias após a aplicação, com expressão média de 40 UA ($\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína), superior ao tratamento controle que em média 17 UA ($\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína). Esses dados contrariam aos obtidos neste trabalho uma vez que a expressão da peroxidase no tratamento controle foi superior ao tratamento com acibenzolar-S-metílico via sementes.

Para o experimento em que houve inoculação das plântulas com *C. lindemuthianum* sete dias após tratamento das sementes foram feitas coletas em dois momentos: 24 e 48 horas após a inoculação. Para a cultivar IPR Tuiuiú, não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos para ambos os momentos de coleta (Tabela 21).

TABELA 21 - Acúmulo de peroxidase de guaiacol expressa em unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS g fw^{-1}), em folhas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, sete dias após tratamento de sementes, 24 e 48 horas após inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*. Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	IPR TUIUIÚ		IPR QUERO-QUERO	
	24 HORAS	48 HORAS	24 HORAS	48 HORAS
<i>Trichoderma asperellum</i>	61,38 ^{ns}	65,35 ^{ns}	53,85 b*	74,15 b
<i>Trichoderma endophyticum</i>	60,90	54,35	69,63 a	74,30 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	48,35	51,73	59,93 a	98,15 a
<i>Trichoderma lentiforme</i>	72,78	63,28	24,90 c	61,58 b
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	40,48	66,25	51,80 b	86,90 a
<i>Trichoderma tomentosum</i>	91,20	85,90	72,80 a	94,18 a
<i>Trichoderma viride</i>	95,08	84,43	74,85 a	98,15 a
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	57,25	83,50	52,08 b	85,08 a
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	52,95	93,75	44,33 b	95,13 a
Controle	55,03	73,55	54,93 b	102,73 a
C.V. (%)	42,20	41,37	19,22	14,39

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

NS = não significativo.

C.V.= coeficiente de variação.

O acúmulo de peroxidase de guaiacol 24 horas após a inoculação das plântulas da cultivar IPR Quero-Quero com *C. lindemuthianum* foi afetado e houve diferenças estatísticas entre os tratamentos (Tabela 21). Os maiores acúmulos em unidades de absorbância foram

detectados com o tratamento das sementes com os isolados *T. endophyticum*, *T. harzianum*, *T. tomentosum* e *T. viride*. Os isolados *T. asperellum* e *T. koningiopsis* foram iguais estatisticamente ao uso de ASM, fungicida e ao controle. O tratamento que apresentou menor expressão foi *T. lentiforme*.

Na coleta realizada 48 horas após a inoculação, os maiores acúmulos foram verificados nos tratamentos com os isolados *T. harzianum*, *T. koningiopsis*, *T. tomentosum*, *T. viride*, ASM e fungicida, os quais foram estatisticamente iguais ao tratamento controle (Tabela 22).

A quantificação da peroxidase também foi afetada após a inoculação de plantas de feijão com *C. lindemuthianum* como relataram Gadaga *et al.* (2017). A inoculação ocorreu sete dias após o tratamento das folhas com produtos alternativos e foi observado que a expressão da enzima foi maior 24 horas após a inoculação com o patógeno, com aumento expressivo e pico no 10º dia e decréscimo até o 17º dia.

Essas coletas demonstram que houve aumento no acúmulo de peroxidase de guaiacol com o passar das horas e isso provavelmente está atrelado ao fato de que o patógeno *C. lindemuthianum* iniciou o processo de infecção das folhas e, em resposta, as plantas iniciaram o processo de defesa. Observou-se que o acúmulo de peroxidase de guaiacol 48 horas após a inoculação foi mais expressivo para a cultivar IPR Quero-Quero do que para a IPR Tuiuiú (Tabela 21).

A utilização de *Trichoderma* spp. em tratamento de sementes e quantificação enzimática está cada vez mais comum. Arellano *et al.* (2021) testaram *T. atroviride* em tratamento de sementes de azevém (*Lolium multiflorum* L.) e verificaram que tal aplicação resultou em aumento na atividade da peroxidase (15%) em comparação ao controle. Quando houve inoculação das plântulas com *Pyricularia oryzae* (Cavara), foi observado um pico na atividade enzimática 48 horas após inoculação com posterior queda e constância até 96 horas após.

Kumar *et al.* (2021) afirmam que a atividade da peroxidase foi aumentada nas plântulas de feijão que receberam aplicação foliar com *T. viride* e *T. erinaceum* e inoculação com *S. sclerotiorum* em relação ao controle. A atividade enzimática foi aumentada em 24 horas, atingiu valor máximo em 48 horas e diminuiu ligeiramente. A atividade da peroxidase foi 116,25% maior para aplicações com *T. viride* de forma isolada e de 115% para aplicação conjunta das duas espécies de *Trichoderma* em relação ao controle.

Siqueira *et al.* (2019) relataram aumento gradativo da atividade da peroxidase após tratamento foliar com diferentes doses de acibenzolar-S-metílico e inoculação com *C. lindemuthianum* em plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), sugerindo aumento na

resistência induzida. Este tipo de indução juntamente com outras medidas de controle, utilizadas tradicionalmente, constituem manejo de doenças adequado focado na redução de danos e custos causados por patógenos.

5.6.2 Polifenoloxidase (EC 1.10.3.2)

Vários mecanismos de defesa nas plantas podem ser ativados em resposta à estímulos externos e um deles é a ativação de enzimas como a polifenoloxidase (STANGARLIN *et al.*, 2011).

A importância da atividade desta enzima na resistência a doenças provavelmente decorre de sua propriedade de oxidar fenóis em quinonas, que são mais tóxicas aos microrganismos do que os fenóis originais. É coerente supor que o aumento na atividade da polifenoloxidase resultará em concentrações maiores de produtos tóxicos e, assim, em maiores graus de resistência às doenças (AGRIOS, 2005a).

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas no acúmulo de polifenoloxidase nas folhas para a cultivar IPR Tuiuiú sete dias após a aplicação dos tratamentos nas sementes (Tabela 22). Para a cultivar IPR Quero-Quero a aplicação dos tratamentos resultou em acúmulo estatisticamente inferior ao controle, ou seja, o uso dos isolados de *Trichoderma*, ASM e fungicida reduziram o acúmulo da enzima em questão.

TABELA 22 - Acúmulo de polifenoloxidase expressa em unidades de absorvância por grama de peso fresco (ABS g fw⁻¹), em folhas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, sete dias após o tratamento de sementes com produtos. Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	POLIFENOLOXIDASE	
	IPR TUIUIÚ	IPR QUERO-QUERO
<i>Trichoderma asperellum</i>	1,13 ^{ns}	0,58 b*
<i>Trichoderma endophyticum</i>	3,88	1,88 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	1,18	0,70 b
<i>Trichoderma lentiforme</i>	0,60	1,33 b
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	1,15	1,55 b
<i>Trichoderma tomentosum</i>	1,20	1,65 b
<i>Trichoderma viride</i>	0,65	1,48 b
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	2,90	1,30 b
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	0,90	1,35 b
Controle	2,80	8,13 a
C.V. (%)	38,10	40,28

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Dados originais, para análise foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.

NS = não significativo.

C.V.= coeficiente de variação.

Ao utilizar diferentes isolados de *Trichoderma* em feijão, Dilley *et al.* (2016) não encontraram diferenças significativas entre os tratamentos utilizados, mas alguns isolados de *T. virens*, *T. longibrachiatum* e *T. harzianum* apresentaram tendência de supressão da atividade enzimática em comparação ao controle tanto na análise foliar quanto na de tecido radicular. Resultados similares foram observados, uma vez que todos os isolados de *Trichoderma* suprimiram a atividade da polifenoloxidase.

Ao contrário, Kumar *et al.* (2021) afirmam que a aplicação conjunta de *T. viride* e *T. erinaceum* resultou em atividade da polifenoloxidase 117,78% maior em plântulas de feijão quando comparado ao tratamento controle.

O uso de *Trichoderma* spp. pode modular as respostas nas plantas desencadeando múltiplas vias de defesa, aumentando a resistência e prevenindo a supressão de genes de defesa. A aplicação foliar de *Trichoderma hamatum* (Bonord.) Bainier aumentou significativamente parâmetros de crescimento de plantas de tomate, aumentou a taxa de clorofila e reduziu o acúmulo de TMV (*Tobacco mosaic vírus*) nos tecidos atacados. Além dessas alterações, Abdelkhalek *et al.* (2022) afirmam que houve redução de marcadores de estresse oxidativo (malondialdeído e H_2O_2) e elevação na atividade de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase e polifenoloxidase).

Trichoderma sp. demonstrou efeito inibitório no crescimento e sobrevivência de *Ralstonia* spp. em plantas de tomate, efeitos atribuídos a secreção de vários compostos como lisozima, viridifungina e trichoconina (YAN; KHAN, 2021). Além disso, um exemplo é a inibição do crescimento de *Ralstonia solanacearum* (Smith) com a aplicação de *T. asperellum* com redução na incidência da doença com a concomitante melhora no crescimento e desenvolvimento das plantas de tomate. Tal resultado foi alcançado devido à indução máxima da atividade de enzimas de defesa, como peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase nas plantas (KONAPPA *et al.*, 2018).

Não foram observadas diferenças estatísticas para o acúmulo de polifenoloxidase sete dias após a aplicação dos tratamentos nas sementes e 24 horas após a inoculação das plântulas da cultivar IPR Tuiuiú com *C. lindemuthianum* (Tabela 23). Ao contrário, diferenças foram observadas 48 horas após a inoculação, onde os maiores índices ocorreram para a aplicação do isolado *T. viride* (Tabela 23).

A quantificação de polifenoloxidase para a cultivar IPR Quero-Quero 24 horas após a inoculação, foi maior quando houve aplicação dos isolados *T. asperellum*, *T. harzianum* e *T. koningiopsis*, os quais foram superiores aos demais tratamentos (Tabela 23). Para a quantificação de 48 horas, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos.

TABELA 23 - Acúmulo de polifenoloxidase expressa em unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS g fw⁻¹), em folhas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero, sete dias após tratamento de sementes, 24 e 48 horas após inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*. Ponta Grossa – PR, 2022.

TRATAMENTO	IPR TUIUIÚ		IPR QUERO-QUERO	
	24 HORAS	48 HORAS	24 HORAS	48 HORAS
<i>Trichoderma asperellum</i>	4,70 ^{ns}	1,93 b*	4,35 a	6,95 ^{ns}
<i>Trichoderma endophyticum</i>	1,85	1,68 b	1,85 b	13,88
<i>Trichoderma harzianum</i>	1,58	3,33 b	3,53 a	2,83
<i>Trichoderma lentiforme</i>	1,33	1,58 b	1,30 b	6,30
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	1,38	2,33 b	3,08 a	2,18
<i>Trichoderma tomentosum</i>	0,73	1,30 b	0,73 b	1,68
<i>Trichoderma viride</i>	0,50	6,18 a	0,43 b	1,38
Acibenzolar-S-Metílico (Bion [®])	2,70	1,48 b	1,00 b	2,50
Hidróxido de fentina (Mertin [®])	1,33	1,53 b	1,43 b	1,00
Controle	1,60	2,43 b	0,68 b	2,80
C.V. (%)	38,02	30,03	36,58	59,50

Fonte: A autora.

Notas: (*) Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Dados originais, para análise foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.

NS = não significativo.

C.V.= coeficiente de variação.

O composto acibenzolar-S-metílico é conhecido como análogo funcional ao ácido salicílico e tem capacidade de induzir mecanismos de resposta nas plantas. Observou-se que composto não resultou em atividade significativa da enzima polifenoloxidase e que para algumas coletas a expressão enzimática foi maior quando houve aplicação de alguma espécie de *Trichoderma* (Tabelas 22 e 23).

Oliveira *et al.* (2019) verificaram que a aplicação foliar de ASM em feijão não resultou em aumento significativo na expressão da polifenoloxidase com resultados iguais ao tratamento controle. As maiores expressões foram observadas nos tratamentos que receberam aplicação de diferentes taxas do extrato aquoso de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler. A dose de 20% aumentou os níveis enzimáticos de polifenoloxidase, catalase e peroxidase, os quais compensaram o estresse causado pelo ataque de *C. lindemuthianum* aumentando assim a produtividade.

Os mecanismos de defesa das plantas são formados por alterações metabólicas referentes às mudanças na atividade, ativação e otimização de enzimas-chaves e nos seus metabólitos (primários e secundários). Com isso, peroxidase e polifenoloxidase possuem importante papel nas vias de defesa, dado que, a atividade dessas enzimas induzidas por agentes abióticos ou bióticos é ampliada e contínua no tecido vegetal (CAMPOS *et al.*, 2004).

6 CONCLUSÃO

O uso de *Trichoderma* spp. pode ser uma alternativa viável para reduzir a severidade de *C. lindemuthianum* em folhas de feijão das cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em casa de vegetação.

O experimento de folha destacada demonstrou que a utilização de *Trichoderma* spp. é eficaz para controlar a antracnose em feijão, mas que não houve indução de resistência sistêmica.

O uso de *Trichoderma* spp. pode ser uma alternativa viável para o controle de *C. lindemuthianum* em sementes de feijão das cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em casa de vegetação.

O uso de *Trichoderma* spp. para controle de antracnose pode resultar em eficiência igual ou superior àquela obtida com o uso de fungicidas ou outros produtos químicos em condições de campo.

Houve menor incidência de *C. lindemuthianum* em sementes oriundas das plantas que receberam aplicação de algum tratamento foliar nos experimentos de campo em todas as safras e em todas as localidades.

A aplicação de *Trichoderma* spp. não aumentou os níveis de peroxidase de guaiacol e polifenoloxidase nas plântulas para a cultivar IPR Tuiuiú via tratamento de sementes.

A aplicação de *Trichoderma* spp. não resultou em aumento nos níveis de peroxidase de guaiacol e polifenoloxidase na cultivar IPR Quero-Quero via tratamento de sementes, mas quando houve a presença de *C. lindemuthianum* algumas espécies se destacaram para aumento da atividade enzimática.

REFERÊNCIAS

- ABDELKHALEK, A. *et al.* *Trichoderma hamatum* strain Th23 promotes tomato growth and induces systemic resistance against *Tobacco Mosaic Virus*. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 3, 1-20, fev. 2022.
- ADAPAR (Agência de Defesa Agropecuária do Paraná). **Pesquisa de Agrotóxicos**. Disponível em: <http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/pesquisar.asp>. Acesso em: 01.jun.2020.
- _____. **Pesquisa de Agrotóxicos**. Disponível em: https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/bion500wg291118.pdf. Acesso em: 31.jul.2022.
- AGRIOS, G. N. **How plants defended themselves against pathogens**. In: AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Academic Press, p. 207-248, 2005a.
- AGRIOS, G. N. **Control of plant diseases**. In: AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Academic Press, p. 295-347, 2005b.
- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários). **Consulta de Agrotóxicos**. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 15.jun.2022.
- AHUJA, I.; KISSEN, R.; BONES, A. M. Phytoalexins in defense against pathogens. **Trends in Plant Science**, Amsterdam, v. 17, n. 2, p. 73-90, 2012.
- ALEXOPOULUS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4 ed. New York: John Wiley, Sons Inc. 869 p. 1996.
- AMIN, M.; TESHELE, J.; TESFAY, A. Evaluation of bioagents seed treatment against *Colletotrichum lindemuthianum*, in haricot bean anthracnose under field condition. **Research in Plant Sciences**, Newark, v. 2, n. 1, p. 22-2, 2014.
- AMIN, M. *et al.* Field management of anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) in common bean through fungicides and bioagents. **Advances in Crop Science and Technology**, v. 2, pp. 124, 2014.
- AMORIM, L.; PASCHOLATI, S. F. **Ciclo de relações patógeno-hospedeiro**. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres. p. 45-70. 2018.
- ANDRADE, C. C. L. *et al.* Indutores de resistência no controle da pinta bacteriana do tomateiro e na atividade de enzimas de defesa. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, n. 1, p. 28-34, 2013.
- ARAGÃO, A.; CONTIN, E. **O agro no Brasil e no mundo: uma síntese do período de 2000 a 2020**. Embrapa Sire (Secretaria de Inteligência e Relações Estratégicas). Disponível em:

<https://www.embrapa.br/documents/10180/62618376/O+AGRO+NO+BRASIL+E+NO+MU+ND+O.pdf/41e20155-5cd9-f4ad-7119-945e147396cb>. Acesso em: 26.mar.2022.

ARELLANO, A. D. V. *et al.* Seeds coated with *Trichoderma atroviride* and soil amended with silicon improve the resistance of *Lolium multiflorum* against *Pyricularia oryzae*. **Biological Control**, v. 154, p. 1 – 14, mar. 2021.

ASSUNÇÃO, A. T. dos. S. *et al.* Controle de antracnose na cultura do feijão com produtos alternativos em casa de vegetação. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 9971-9982, mar. 2020.

ATANASOVA, L. *et al.* Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. **BMC Genomics**, Londres, v. 121, n. 14, p. 1-15, 2013.

BAE, S. J. *et al.* *Trichoderma* metabolites as biological control agents against *Phytophthora* pathogens. **Biological Control**, v. 92, n. 1, p. 128-138, 2016.

BAIYEEA, B.; ITO, S.; SUNPAPAO, A. *Trichoderma asperellum* T1 mediated antifungal activity and induced defense response against leaf spot fungi in lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 106, p. 96-101, apr. 2019.

BALESTRIN, J. T. *et al.* Influência do tratamento de sementes e da profundidade de semeadura na emergência de plântulas de soja e feijão. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 7, p. 49804-4981, jul. 2020

BARBOSA, F. R.; MAIA, L. C.; GUSMÃO, L. F. P. Fungos conidiais associados ao folheto de *Clusia melchiorii* Gleason e *C. nemorosa* G. Mey. (Clusiaceae) em fragmento de Mata Atlântica, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 1, p. 79-84, 2009.

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. **Informações técnicas para cultivo do feijoeiro comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012. 247 p.

BELADELI, M. N. *et al.* Uso de fungicidas e *Trichoderma asperellum* para o manejo do cretamento do feijoeiro na segunda safra no Paraná. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 7, p. 71158-71167, jul. 2021a.

BELADELI, M. N. *et al.* Aplicação de fungicidas e *Trichoderma asperellum* para o manejo de doenças do feijoeiro na safra das águas. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 3, p. 25143-25161, mar. 2021b.

BISEN, K. *et al.* *Trichoderma* spp.: efficient inducers of systemic resistance in plants. In: CHOUDHARY, D. K.; VARMA, A. **Microbial-mediated induced systemic resistance in plants**. Singapore: Springer Science, 2016. p. 185-195.

BOERSMA, S. J. *et al.* Fungicide efficacy for control of anthracnose of dry bean in Ontario. **Crop Protection**, v. 127, n. 1, p. 1-30, jan. 2020.

- BONETT, L. P. *et al.* Divergência genética em germoplasma de feijoeiro comum coletado no Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 547-560, out./dez. 2006.
- BOLLER, T.; FELIX, G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 60, n. 1, p. 379-406, 2009.
- BORSATO, L. C.; DI PIERO, R. M.; STADNIK, M. J. Mecanismos de defesa eliciados por ulvana contra *Uromyces appendiculatus* em três cultivares de feijoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 5, p. 318-322, 2010.
- BROTMAN, Y. *et al.* *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. **Plos Pathogens**, Berkeley, v. 9, n. 3, 2013.
- CALDERÓN, A. A. *et al.* A resveratrol production as a part of the hypersensitive-like response of grapevine cells to an elicitor from *Trichoderma viride*. **New Phytopatologist**, v. 124, n. 1, p. 455-463, 1993.
- CAMEJO, D.; GUZMÁN-CEDENO, Á.; MORENO, A. Reactive oxygen species, essential molecules, during plant-pathogen interactions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 103, p. 10-23, jun. 2016.
- CAMPA, A. *et al.* Genetic analysis of the response to eleven *Colletotrichum lindemuthianum* races in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BMC Plant Biology**, v. 14, n. 115, p.1-12, 2014.
- CAMPOS, Â. D. *et al.* Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 39, n. 7, p. 637-643, jul. 2004.
- CANTERI, M. G. *et al.* SASM-Agri: sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, Ponta Grossa, v. 1, n. 2, p. 18-24, 2001.
- CARMO, M. D. S. *et al.* Avaliação de acessos de feijão-fava, para resistência a *Colletotrichum truncatum*, em condições de folhas destacadas e campo. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 4, p. 292-297, 2015.
- CARNEIRO, S. M. T. P. G. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* no Estado do Paraná. **Summa Phytopathologica**, v. 25, n. 1, p. 275-278, 1999.
- CARNEIRO, J. E.; PAULA JÚNIOR, T. J. de.; BORÉM, A. **Feijão: do plantio a colheita**. Viçosa: UFV. 2015. 384 p.
- CARVALHO, D. D. C. *et al.* Controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in vitro e em sementes e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 1, p. 28-34, 2011.

CARVALHO, J. C. *et al.* Análise bromatológica e fisiológica de sementes de feijão enriquecidas com extratos secos de alecrim e cúrcuma. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 17, n. 4, out./dez., p. 479-484, 2018.

CARVALHO, J. J. *et al.* Teor e acúmulo de nutrientes em grãos de feijão comum em semeadura direta, sob déficit hídrico. **Irriga**, Botucatu, v. 1, n. 1, p. 104-117, 2014.

CAVALCANTI, L. S. *et al.* **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida.** In: CAVALCANTI, L. S. *et al.* **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos.** 1. ed. Piracicaba: FEALQ, p.81-124, 2005.

CAVALCANTI, F. R. *et al.* An aqueous suspension of *Crinipellis pernicios* mycelium activates tomato defence responses against *Xanthomonas vesicatoria*. **Crop Protection**, Guildford, v. 26, n. 5, p. 729-738, 2007.

CAVALCANTI, F. R.; PEREIRA, V. F.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M. **Aspectos da indução de resistência em plantas de videira.** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2014. 20p. (Documentos, 88).

CHAUDHARY, P. *et al.* Cultivable and metagenomic approach to study the combined impact of nanogypsum and *Pseudomonas taiwanensis* on maize plant health and its rhizospheric microbiome. **Plas One**, v. 16, n. 4, p. 1-17, 2021.

CHAUURASIA, B. *et al.* Diffusible and volatile compounds produced by an antagonistic *Bacillus subtilis* strain cause structural deformations in pathogenic fungi in vitro. **Microbiological research**, v. 160, n. 1, p. 75-81, 2005.

CHOUDHARY, D. K.; PRAKASH A.; JOHRI, B. N. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. **Indian Journal Microbiology**, New Delhi, v. 47, n. 1, p. 289–297, 2007.

CHRISTMANN, P. E. T. P. *et al.* In vitro control of *Colletotrichum lindemuthianum* by *Trichoderma* spp. and in vivo with alternative products. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 6, n. 1, p. 74-80, 2019.

COÊLHO, J. D. **Produção de grãos – feijão, milho e soja.** Disponível em: [https://www.bnb.gov.br/documents/80223/5014256/81_Graos.pdf/b4faa20e-6855-fdf6-1629-741afb0748f#:~:text=Os%20maiores%20produtores%20mundiais%20de,toneladas%20\(FAO%20STAT%202019\).](https://www.bnb.gov.br/documents/80223/5014256/81_Graos.pdf/b4faa20e-6855-fdf6-1629-741afb0748f#:~:text=Os%20maiores%20produtores%20mundiais%20de,toneladas%20(FAO%20STAT%202019).) . Acesso em: 17.set.2020.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos – décimo levantamento, safra 2019/20.** Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 21.set.2020.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos – décimo segundo levantamento, safra 2019/20.** Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos?start=10>. Acesso em: 11.abr.2022.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos – décimo primeiro levantamento, safra 2020/21.** Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 02.set.2021.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos – sexto levantamento, safra 2021/22.** Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 26.mar.2022.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos – sétimo levantamento, safra 2021/22.** Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 12.abr.2022.

CONAB. **Feijão: Análise Mensal.** Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-feijao>. Acesso em: 13.ago.2021.

DALLA PRIA, M. *et al.* Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaeoisariopsis griseola* e *Alternaria* sp. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 23, n. 2, p. 181-183, 1997.

DALLA PRIA, M.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Quantificação de componentes monocíclicos da antracnose do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 4, p. 401-407, 2003.

DALLA PRIA, M.; SILVA, O. C. da. **Antracnose.** In: DALLA PRIA, M.; SILVA, O. C. da. **Cultura do feijão: doenças e controle.** 1. ed. Ponta Grossa: Editora UEPG, p. 49-56. 2010.

DARTIBALE, G. B. *et al.* **Caracterização de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) oriundos dos Estados do Paraná e de Pernambuco.** In: XXV Encontro Anual de Iniciação Científica, 2016, Maringá. Resumos. Maringá: UEM, p.1-4.

DE ABREU, L. M.; PFENNING, L. H. **O gênero *Trichoderma*.** In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da. ***Trichoderma*: uso na agricultura.** Embrapa Soja: Londrina, p.163-179, 2019.

DE MEYER, G. *et al.* Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 104, n. 1, p. 279, 1998.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*: hyphal interactions. **Transactions of the British Mycological Society**, Londres, v. 57, n. 3, p. 363- 369, 1971.

DI PIERO, R. M.; GARDA, M. V. Quitosana reduz a severidade da antracnose e aumenta a atividade de glucanase em feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 9, p. 1121-1128, set. 2008.

DILDEY, O. D. F. *et al.* *Trichoderma*-bean interaction: defense enzymes activity and endophytism. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 43, p. 4286-4292, oct. 2016.

DILDEY, O. D. F. **Indução de resistência à antracnose do feijoeiro por frações de filtrado de cultura e extrato de micélio de *Trichoderma longibrachiatum***. 2017. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Marechal Cândido Rondon, 2017.

DINIZ, C. A. **Considerações sobre indução de resistência a patógenos em plantas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009, 28 p.

DIXON, R. A. *et al.* Phytoalexin induction in French bean: intercellular transmission of elicitation in cell suspension cultures and hypocotyl sections of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 71, n. 2, p. 251–256, 1983.

DRUZHININA, I. S. *et al.* *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749-759, 2011.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R. K. O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, London, v. 64, p. 351-359, 1999.

DUHATSCHEK, E. *et al.* Utilização de produtos químicos, biológicos e alternativos no controle de doenças foliares do trigo. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 10, n. 2, p. 105-109, mai./ago. 2017.

DUKARE, A.S. *et al.* Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, p. 1498-1513, jan. 2018.

EDREVA, A. A novel strategy for plant protection: induced resistance. **Journal of Cell and Molecular Biology**, Istanbul, v. 3, n. 1, p. 61-69, 2004.

ELAMATHI, E. *et al.* Expression analysis on mycoparasitism related genes during antagonism of *Trichoderma* with *Colletotrichum falcatum* causing red rot in sugarcane. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 351–361, jan. 2018.

FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **Crops**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 11.ago.2021.

FIGUEIRA, E. P. P. *et al.* Histochemical changes induced by *Trichoderma* spp. and potassium phosphite in common bean (*Phaseolus vulgaris*) in response to the attack by *Colletotrichum lindemuthianum*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 41, n. 3, p. 811-828, maio/jun. 2020.

FRASCA *et al.* Bioestimulantes no crescimento vegetal e desempenho agrônômico do feijão-comum de ciclo superprecoce. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 13, n. 47, p. 27-41, 2020.

GABARDO, G. *et al.* Respostas fisiológicas das cultivares de soja NA5909 e TMG7062 submetidas a diferentes produtos para controle de doenças fúngicas em campo. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 15673-15689, mar. 2020a.

- GABARDO, G. *et al.* Método da folha destacada para avaliação da indução de resistência de produtos alternativos a *Phakopsora pachyrhizy*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani* em soja. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 7, p. 43847-43862, jul. 2020b.
- GABARDO, G. *et al.* Alternative products to control late season diseases in soybeans. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 52, n. 2, p. 1-6, 2022.
- GADAGA, S. J. C. *et al.* Phosphites for the control of anthracnose in common bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 52, n. 1, p. 36-44, jan. 2017.
- GARCIA, A. *et al.* Influência das variáveis ambientais no progresso da antracnose do feijoeiro e eficiência de tiofanato metílico + clorotalonil no controle da doença. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1709-1715, nov./dez. 2007.
- GHINI, R. **Integração do controle biológico com outros métodos de controle de doenças de plantas.** In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas.** Embrapa Meio Ambiente: Jaguariúna, p. 7-14. 2009.
- GODOY, C. V. *et al.* Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Heidelberg, v. 104, n. 4, p. 336-345, 1996.
- GOMES, E. V. *et al.* The cerato-platanin protein Epl-1 from *Trichoderma harzianum* is involved in mycoparasitism, plant resistance induction and self-cell wall protection. **Scientific Reports**, v. 5, p. 17998, 2015.
- GONTIJO NETO, G. F. *et al.* Controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro comum com indutores de resistência. **Nucleus**, Ituverava, v. 13, n. 2, p. 199-218, out. 2016.
- GOODMAN, R. N.; KIRÁLY, Z.; WOOD, K. R. **The biochemistry and physiology of plant disease.** 1. ed. Columbia: University of Missouri Press, 1986. 433p.
- GUTIÉRREZ-MORENO, K. *et al.* Context-dependent effects of *Trichoderma* seed inoculation on anthracnose disease and seed yield of bean (*Phaseolus vulgaris*): ambient conditions override cultivar-specific differences. **Plants**, v. 10, n.8, p.1739-1755, aug. 2021.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 1, p. 190-194, 2006.
- HEIL, M.; BOSTOCK, R. M. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. **Annals of Botany**, London, v. 89, n. 5, p. 503–512. 2002.
- HENNIPMAN, H. S. *et al.* Biotic and abiotic products for bean angular spot control. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 6, p. 139-147. 2019.
- HENIS, Y.; CHET, I. Microbiological control of plant pathogens. **Advances in Applied Microbiology**, Madison, v. 19, n. 1, p. 85-111, 1975.
- HERMOSA, R. *et al.* Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.

IAPAR. **Cultivares de feijão do IAPAR: proposta para a safra de 2013/14**. Disponível em: http://www.asbraer.org.br/index.php/consulta/item/download/560_893d3e5b805df5c8f9eefd880a4319ff+&cd=3&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br. Acesso em: 01.jun.2020.

IAPAR. **Principais características das cultivares de feijão com sementes disponíveis no mercado**. Disponível em: <http://www.iapar.br/pagina-1363.html>. Acesso em: 01.jun.2020.

IAPAR. **Atlas Climático do Paraná**. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=2533>. Acesso em: 23.jun.2020.

JAKLITSCH, W. M. European species of *Hypocrea* Part I. The green-spored species. **Studies in Mycology**, v. 63, n. 1, p. 1-91, 2009.

JAKLITSCH, W. M.; VOGLMAYR, H. Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. **Studies in Mycology**, v. 80, n. 1, p. 1-87, 2015.

JUSTYNA, P. K.; EWA, K. Induction of resistance against pathogens by b-aminobutyric acid. **Acta Physiologiae Plantarum**, Krakow, v. 35, n. 6, p. 1735–1748, 2013.

KAMIKOGA, A. T. M. Método da folha destacada para avaliar a resistência da soja ao oídio. **Scientia Agraria**, v. 3, n. 1, p. 113-132, jun. 2002.

KOMIVES, T.; KIRALY, Z. Disease resistance in plants: the road to phytoalexins and beyond. **Ecocycles**, v. 5, n. 1, p. 7-12, 2019.

KONAPPA, N. *et al.* Evaluation of biological efficacy of *Trichoderma asperellum* against tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, n. 63, p. 1-11, jul. 2018.

KUBICEK, C. P. *et al.* Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, p. 1-15, 2011.

KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou Acibenzolar-S-Metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 2, p. 107- 114, 2010.

KUMAR, G. *et al.* *Trichoderma*: a potential fungal antagonist to control plant diseases. **Satsa Annual Technical Issue**, Kolkata, v. 21, n. 1, p. 206-218, 2017.

KUMAR, S. *et al.* Activation of defense response in common bean Against stem rot disease triggered by *Trichoderma erinaceum* and *Trichoderma viride*. **Journa of Basic Microbiology**, v. 61, n. 10, p. 910-922, oct. 2021.

LANDERS, J. N.; OLIVEIRA, H. N. de. **Controle biológico: o próximo pulo do gato**. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1092714/1/RevistaPlantiodireto1.pdf>. Acesso em: 28.mar.2022.

LES, N. *et al.* Controle de *Rhizoctonia solani* com produtos biológicos no tratamento de sementes na cultura da soja. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 12, p. 99919-99935, dez., 2020

LITON, M. J. A. *et al.* Efficacy of *Trichoderma*-fortified compost in controlling soil-borne diseases of bush bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and sustainable crop production. **Advances in Agricultural Science**, v. 7, n. 2, p. 123-136, aug. 2019.

LLORENS, E.; GARCÍA-AGUSTÍN, P.; LAPEÑA, L. Advances in induced resistance by natural compounds: towards new options for woody crop protection. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 74, n. 1, p. 90-100, 2017.

LOBO JUNIOR, M.; MACHADO-ROSA, T. A.; GERALDINE, A. M. **Uso de *Trichoderma* na cultura do feijão-comum**. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da. ***Trichoderma*: uso na agricultura**. Embrapa Soja: Londrina, p. 393-406, 2019.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 25, p. 244-249, 1999.

MA, J. F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, Amsterdam, v. 11, n. 8, p. 392-397, 2006.

MBAZIA, A.; YOUSSEF, N. O. B.; KHARRAT, M. Tunisian isolates of *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* control *Botrytis fabae* on faba bean. **Biocontrol Science and Technology**, v. 26, n. 7, p. 915-927, may. 2016.

MACHADO, D. F. M. *et al.* *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MACHADO, J. da. C. Padrões de tolerância de patógenos associados à semente. **Revisão Anual de Patologia de Planta**, n. 2, p. 229-263, 1994.

MAPA. **Portaria nº 71, de 22 de fevereiro de 1999**. Disponível em: <http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2012/10/Portaria-n%C2%BA-71-de-22-fevereiro-de-1999-Institui-o-Programa-de-Sanidade-de-Pragas-n%C3%A3o-Quarenten%C3%A1rias-Regulament%C3%A1veis-na-prod.-e-comerc.-de-sementes.pdf>. Acesso em: 22.jan.2022.

MAPA. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. 1. ed. Brasília: Binagri, 2009. 201 p.

MAPA. **Padrões para produção e comercialização de sementes de feijão** (*Phaseolus vulgaris* L.). Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013, anexo XXIII. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/copy_of_INN45de17desetembrode2013.pdf. Acesso em: 18.jan.2022.

MASSOLA JÚNIOR, N. S. **Fungos Fitopatogênicos**. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres. p. 107-141. 2018.

MENTEN, J. O. M. *et al.* Qualidade das sementes de feijão no Brasil. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 3, n. 2, p. 1-5, 2006.

MOHAMMED, A. An overview of distribution, biology and the management of common bean anthracnose. **Journal of Plant Pathology & Microbiology**, v. 4, n. 8, p. 4-9, 2013.

MONTEMOR, L. *et al.* Detecção de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes do banco de germoplasma de feijão da Universidade do Estado de Santa Catarina. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 11, n. 1, p. 48-53, 2012.

MONTERO-BARRIENTOS, M. *et al.* Functional analysis of the *Trichoderma harzianum* *nox1* gene, encoding an NADPH oxidase, relates production of reactive oxygen species to specific biocontrol activity against *Pythium ultimum*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 77, n. 9, p. 3009-3016, 2011.

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

MOURA, A. R. *et al.* Variabilidade fisiológica de *Colletotrichum lindemuthianum* na cultura do feijoeiro comum em municípios do centro oeste paranaense. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 5, n. 1, p. 46-59, 2016.

MYCOBANK. *Colletotrichum lindemuthianum*. Disponível em: <https://www.mycobank.org/page/Simple%20names%20search>. Acesso em: 22.set.2020.

MYRESIOTIS, C. K.; VRYZAS, Z.; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Enhanced root uptake of acibenzolar-S-methyl (ASM) by tomato plants inoculated with selected *Bacillus* plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 77, n. 1, p. 26-33, 2014.

NAHER, L. *et al.* *Trichoderma* spp.: a biocontrol agent for sustainable management of plant diseases. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 46, n. 4, p. 1489-1493, 2014.

NIRANJAN RAJ, A. S. *et al.* Histo-chemical changes induced by PGPR during induction of resistance in pearl millet against downy mildew disease. **Biological Control**, Orlando, v. 60, n. 1, p. 90-102, 2012.

NUNES, M. P. **Virulência e variabilidade molecular de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2013. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2013.

O'BRIEN, J. A. *et al.* Reactive oxygen species and their role in plant defence and cell wall metabolism. **Planta**, v. 236, n. 3, p. 765-779, sep. 2012.

O'BRIEN, P. A. Biological control of plant diseases. **Australian Plant Pathology**, Calyton, v. 46, n. 4, p. 293-304, 2017.

O'CONNELL, R. J.; BAILEY, J. A.; RICHMOND, D. V. Cytology and physiology of infection of *Phaseolus vulgaris* by *Colletotrichum lindemuthianum*. **Physiological Plant Pathology**, v. 27, n. 1, p. 75-98, 1985.

OLIVEIRA, B. G. de.; CARNEIRO, S. M. de. T. P. G.; ROMANO, E. D. B. Caracterização de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* no Estado do Paraná. **Iniciação Científica Cesumar**, Maringá, v. 16, n. 2, p. 205-211, jul./dez. 2014.

OLIVEIRA, F. *et al.* Produção de feijão caupi em função da salinidade e regulador de crescimento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 11, p. 1049-1056, 2015.

OLIVEIRA, M. G. de. C. *et al.* **Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos**. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/173690/1/CNPAF-2018-lvfeijoeiro.pdf>. Acesso em: 01.jun.2020.

OLIVEIRA, A. C. *et al.* *Lentinula edodes* extract in the control and induction of resistance to common bean pathogens. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 14, n. 4, p. 1-6, dez. 2019.

PADDER, B. A. *et al.* Evaluation of bioagents and biopesticides against *Colletotrichum lindemuthianum* and its integrated management in common bean. **Notulae Scientiae Biologicae**, n. 2, p. 72-76, 2010.

PADDER, B. A. *et al.* *Colletotrichum lindemuthianum*, the causal agent for bean anthracnose. **Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 99, n. 2, p. 317-330, 2017.

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.

PASCHOLATI, S. F.; DALIO, R. J. D. **Fisiologia do parasitismo**: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres. p. 424-452. 2018.

PEDRO, A. S. *et al.* Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 11, p. 1589-1595, 2012.

PEITL, D. C. *et al.* Biological control of tomato bacterial spot by saprobe fungi from semi-arid areas of northeastern Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p.1251-1263, 2017.

PEIXOTO, R. **Especialistas comentam polêmico declínio do consumo de feijão no Brasil**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/42217659/especialistas-comentam-polemico-declinio-do-consumo-de-feijao-no-brasil>. Acesso em: 17.set.2020.

PEREIRA, H. S. *et al.* Influência do ambiente em cultivares de feijoeiro-comum em cerrado com baixa altitude. **Bragantia**, Campinas, v. 71, n. 2, p. 165-172, 2012.

PEREIRA, H. S. *et al.* Genotype by environment for disease resistance and other importante agronomic traits supporting the indication of common bean cultivars. **Euphytica**, Berlin, v. 214, n. 12, p. 1-11, 2018.

PERSOON, C. H. Neuer Versuch einer systematischen Eintheilung der Schwämme. **Neues Magazin für die Botanik**, v. 1, p. 63-80, 1794.

PITTNER, E. **Fungos endofíticos de plantas daninhas no controle da mancha marrom do trigo**. 2016. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava. 2016.

POZZA JUNIOR, M. C. *et al.* Phaseolin induction on common-bean cultivars and biological control of *Colletotrichum lindemuthianum* 89 race by *Baccharis trimera* (Less.) Dc. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, n. especial, p. 1-9, 2021.

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

REZENE, Y. *et al.* Simple and rapid detached leaf technique for screening common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in vitro against angular leaf spot (*Pseudocercospora griseola*) disease. **African Journal of Biotechnology**, v. 17, n. 35, p. 1076-1081, aug. 2018.

RIFAI, M. A. **A revision of the genus *Trichoderma***. 1. ed. Kwe: Commonwealth Mycological Institute, 1969. 56 p.

SABA, H. *et al.* *Trichoderma* – a promising plant growth stimulator and biocontrol agent. **Mycosphere**, Guizhou, v. 3, n. 4, p. 524-531, 2012.

SAMUELS, G. J.; HEBBAR, P. K. **Developing *Trichoderma*-based products for application in agriculture**. In: SAMUELS, G. J.; HEBBAR, P. K. (Ed.). ***Trichoderma: identification and agricultural applications***. Saint Paul: American Phytopathological Society, 2015. p. 7-34.

SANTOS, J. B. *et al.* **Botânica**. In: CARNEIRO, J. E.; PAULA JÚNIOR, T. J. de.; BORÉM, A. **Feijão: do plantio a colheita**. Viçosa: UFV. 2015. p. 38-66.

SANTOS, F. G. dos.; SILVEIRA, E. R.; JAMHOUR, J. Atributos de qualidade de sementes salvas de feijão. **Revista Técnico-Científica do CREA-PR**, v. 7, n. 22, p. 1-14, 2019.

SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 787-799, 2010.

SHARMA, V. *et al.* Elucidation of biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* against different plant fungal pathogens: universal yet host specific response. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, n. 1, p. 72-79, 2017.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slowmildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, 1977.

SILVA, F. de. A. *et al.* Introduction of *Trichoderma* spp. biocontrol strains against *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary change soil microbial community composition in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivation. **Biological Control**, v. 163, p. 1-12, nov. 2021a.

SILVA, F. de. A. *et al.* Influence of the biocontrol agents *Trichoderma* spp. on the structure and functionality of the edaphic microbial community in common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Applied Soil Ecology**, v. 168, n. 1, p. 1-7, aug. 2021b.

SILVA, F. F. *et al.* Emergência e análise ultraestrutural de plântulas de soja inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum* sob efeito da aplicação de *Trichoderma harzianum*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 43, n. 1, p. 41-45, jan./mar. 2017.

SILVA, H. T. da. **Morfologia do feijão**. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/CONTAG01_9_1311200215101.html. Acesso em: 17.set.2020.

SILVA, L. L. *et al.* Aumentar as competências dos agricultores para a prática de uma agricultura sustentável. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 43, n. 2, p. 240-252, 2020.

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.

SILVA, M. S. *et al.* Uso de antagonistas e produtos alternativos no manejo pós-colheita de podridão mole em pimentão. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 4, p. 718-725, out./dez. 2014.

SILVA, O. F. da.; WANDER, A. E. **O feijão-comum no Brasil: passado, presente e futuro**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2013. 62 p.

SILVA, R. S. *et al.* Morfologia e produção de feijão comum em função da aplicação de bioestimulantes. **Revista Scientia Plena**, v. 12, n. 10, p. 1-7, 2016.

SILVA, V. N. *et al.* Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, 2011.

SILVA JUNIOR, G. J. da.; BEHLAU, F. **Controle químico**. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres. p. 239-260. 2018.

SINGH, S. P.; SCHWARTZ, H. F. Breeding common bean for resistance to diseases: a review. **Crop Science**, v. 50, n. 1, p. 2199-2223, 2010.

SINGH, A. *et al.* Review on plant-*Trichoderma*-pathogen interaction. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, Kancheepuram, v. 7, n. 2, p. 2382-2397, 2018.

SINGH, D. *et al.* **Impacts of agrochemicals on soil microbiology and food quality**. In: PRASAD, M. N. V. *et al.* **Agrochemicals detection, treatment and remediation**. 1. ed. Cambridge: Elsevier. p. 101-116, 2020.

SIQUEIRA, I. T. D. de. *et al.* Indução de resistência por acibenzolar-S-metil em feijão caupi no controle da antracnose. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 45, n. 1, p. 76-82, 2019.

SMITH, C. J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **The New Phytologist**, v. 132, n. 86, p. 1-45, 1996.

SOLINO, A. J. da. *et al.* Accumulation of phytoalexins in beans, soybeans, and sorghum by fungal filtrates. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 1073-1078, out./dez. 2017.

SOUZA, R. S.; WANDER, A. E. Aspectos econômicos da produção de feijão no Brasil. **Revista de Política Agrícola**, v. 23, n. 3, p. 43 – 54, 2014.

SOUZA, E. P. de. *et al.* Alta dosagem de *Trichoderma harzianum* em tomateiro influencia negativamente a produção de mudas e produção. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, Londrina, v. 34, n. esp., p. 20-36, set. 2018.

STADNIK, M. Indução de resistência a oídios. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 26, n. 1, p. 175-177, 2000.

STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Atividades de ribulose-1,5-bifosfato carboxilaseoxigenase (rubisco), clorofilase, β -1,3 glucanase e quitinase e conteúdo de clorofila em cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) infectados com *Uromyces appendiculatus*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 26, n. 1, p. 34-42, 2000.

STANGARLIN, J. R. *et al.* A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011.

STEFFEN, G. P. K. *et al.* Increasing productivity of cabbage by two species of *Trichoderma* fungi. **International Journal of Environmental Studies**, v. 78, n. 5, p. 797-803, dec. 2020.

SUREKHA, C. H. *et al.* Induction of defense enzymes and phenolic content by *Trichoderma viride* in *Vigna mungo* infested with *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata*. **International Journal of Agricultural Science and Research**, Chhattisgarh, v. 4, n. 4, p.31-40, 2014.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TARKKA, M. T.; PIECHULLA, B. Aromatic weapons: truffles attack plants by the production of volatiles. **New Phytologist**, v. 175, n. 3, p. 381-383, 2007.

TELAXKA, F. J. *et al.* Extrato aquoso e fermentado de fumo-bravo (*Solanum mauritianum* Scop) na proteção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) ao crestamento bacteriano comum. **Revista Brasileira e Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 8, n. 3, p. 81-90, set. 2018.

TSUKAHARA, R. Y *et al.* **Sistema de Monitoramento Agrometeorológico do Grupo ABC: Análise Climática das Safras 2019/2020, 2020/2021 e 2021/2022.** Disponível em: <http://sma.fundacaoabc.org>. Acesso em: 14.abr.2022.

TWIZEYIMANA, M. *et al.* Comparison of field, greenhouse and detached-leaf evaluations of soybean germplasm for resistance to *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Disease**, Saint Paul, n. 91, p. 1161-1169, 2007.

UCHÔA, E. B. *et al.* New races of *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean from Paraná State, Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 58, p. 41-42, 2015.

VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão**. 2. ed. Viçosa: UFV. 2006. 600 p.

WAGHUNDE, R. R.; SHELAK, R. M.; SABALPARA, A. N. *Trichoderma*: A significant fungus for agriculture environment. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 22, p. 1952-1965, 2016.

WALTERS, D. R. *et al.* Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance elicitors. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 95, n. 12, p. 1368-1373, 2005.

WALTERS, D. R.; FOUNTAINE, J. M. Practical application of induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. **Journal of Agricultural Science**, New York, v. 147, n. 1, p. 523-535, 2009.

WALTERS, D. R.; RATSEP J.; HAVIS, N. D. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 64, n. 5, p. 1263-1280, 2013.

WEBSTER, J.; WEBER, R. W. S. **Introduction to fungi**. 3. ed. Cambridge: University Press. 841 p. 2007.

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.

XAVIER, L. F. S. *et al.* Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão comum no Estado do Paraná. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v. 9, n. especial, p. 221-245, 2020.

YAMAGUCHI, I. **Activators for systemic acquired resistance**. In: HUTSON, D.; MYAMAMAMOTO, J. **Fungicidal Activity**. 1. ed. New York: Wiley. 1998.

YADAV, M.; DUBEY, M. K.; UPADHYAY, R. S. Systemic resistance in chilli pepper against anthracnose (caused by *Colletotrichum truncatum*) induced by *Trichoderma*

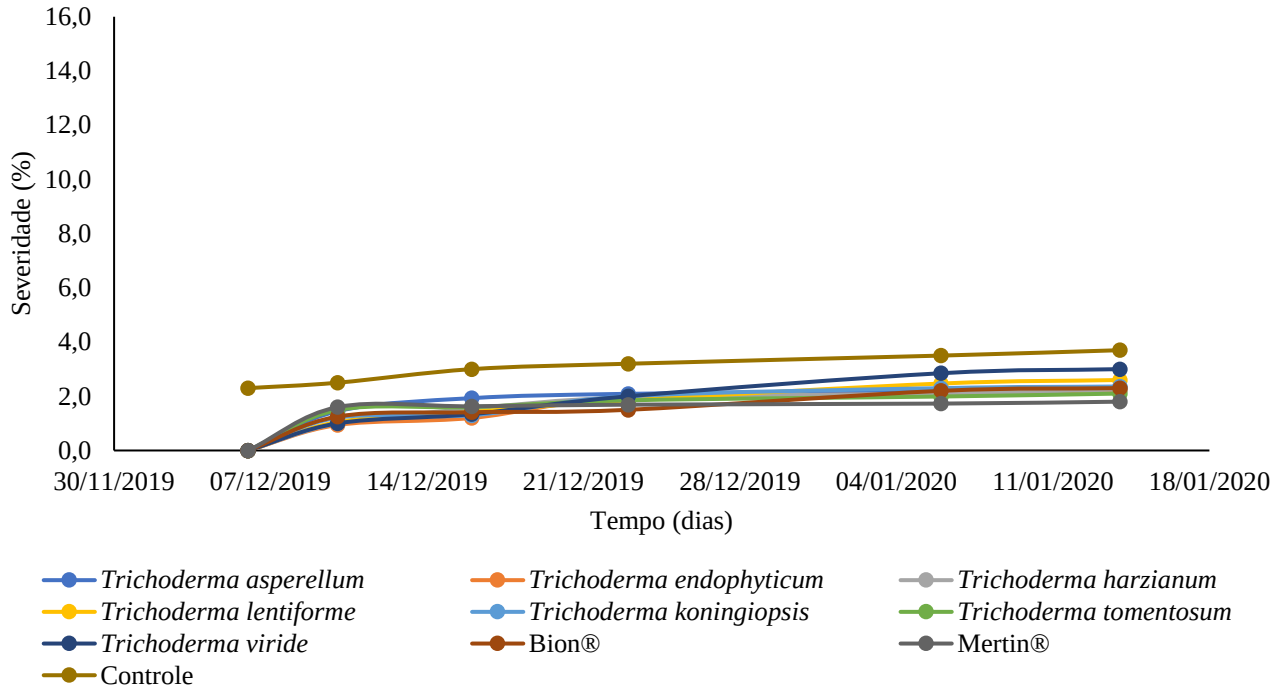
harzianum, *Trichoderma asperellum* and *Paenibacillus dendritiformis*. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 4, p. 307-334, apr. 2021.

YAN, L.; KHAN, R.A. Biological control of bacterial wilt in tomato through the metabolites produced by the biocontrol fungus, *Trichoderma harzianum*. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 31, n. 5, p. 1-9, jan. 2021.

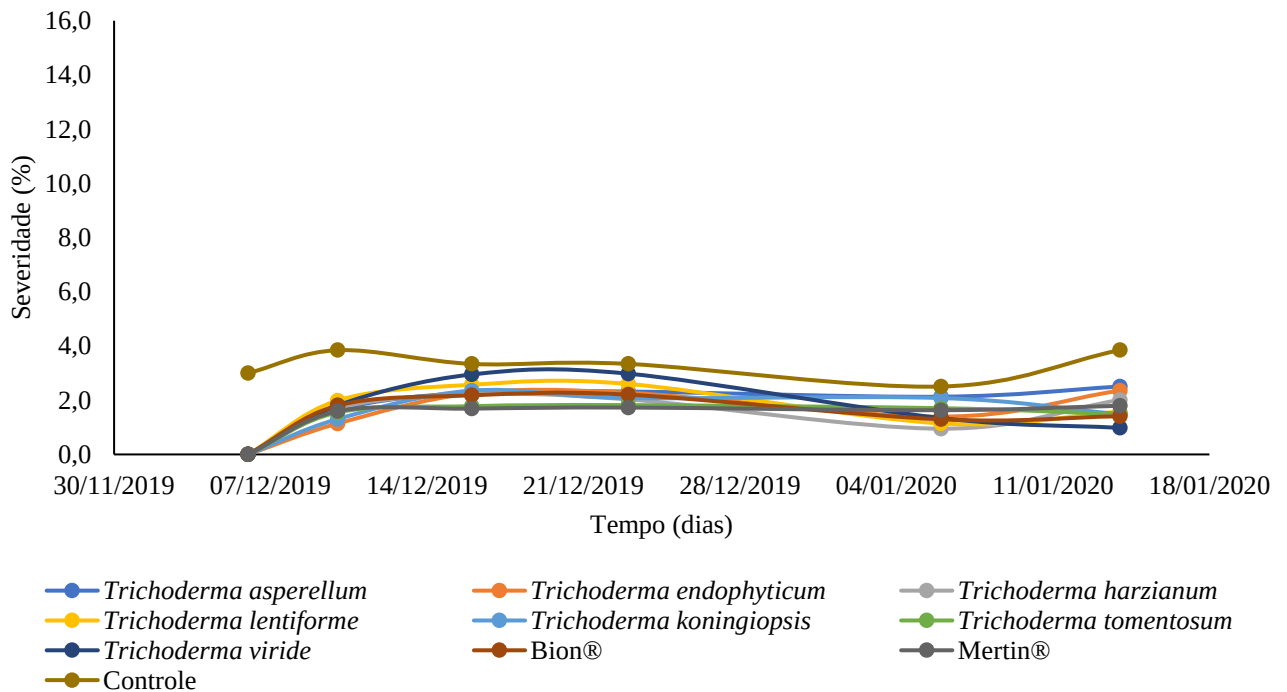
YARWOOD, C. E. Detached leaf culture. **The Botanical Review**, Lancaster, v. 12, n. 1, p. 1-56, 1946.

ANEXO A – Severidade (%) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, safra 2019/2020. Fazenda Escola Capão da Onça, Ponta Grossa – PR, 2022.

IPR TUIUIÚ

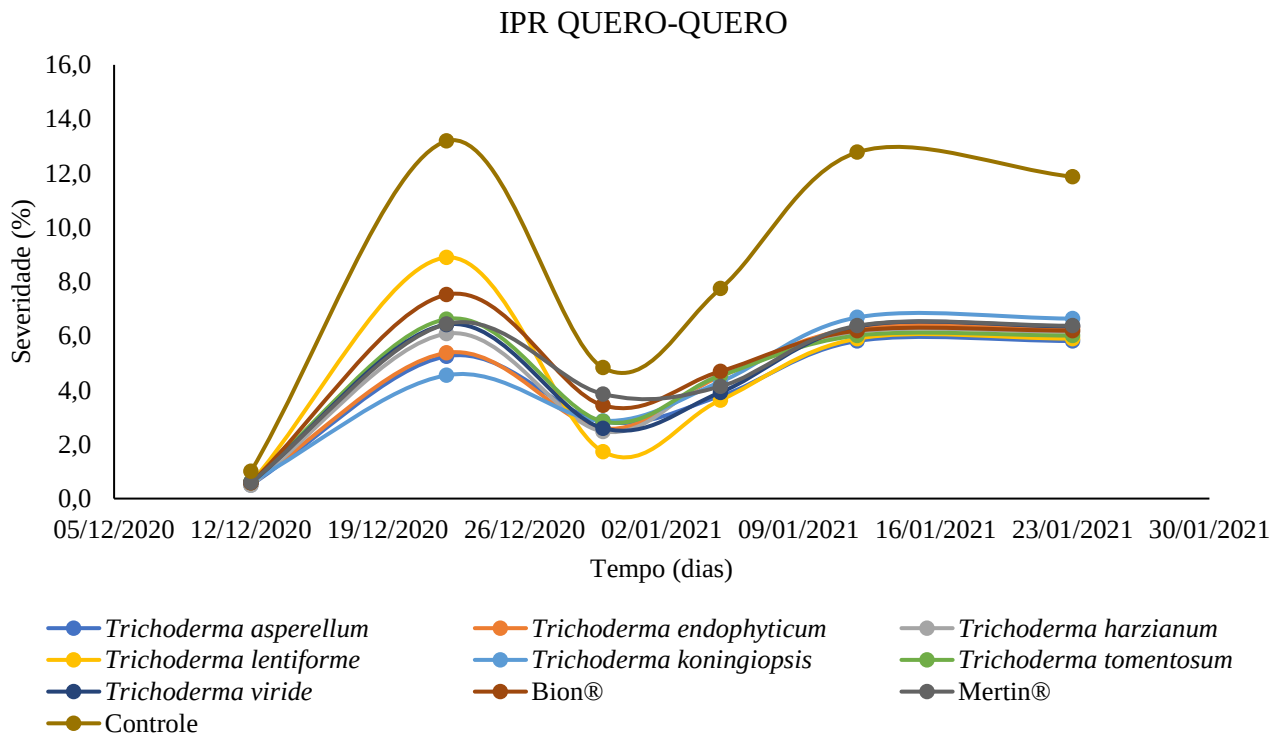
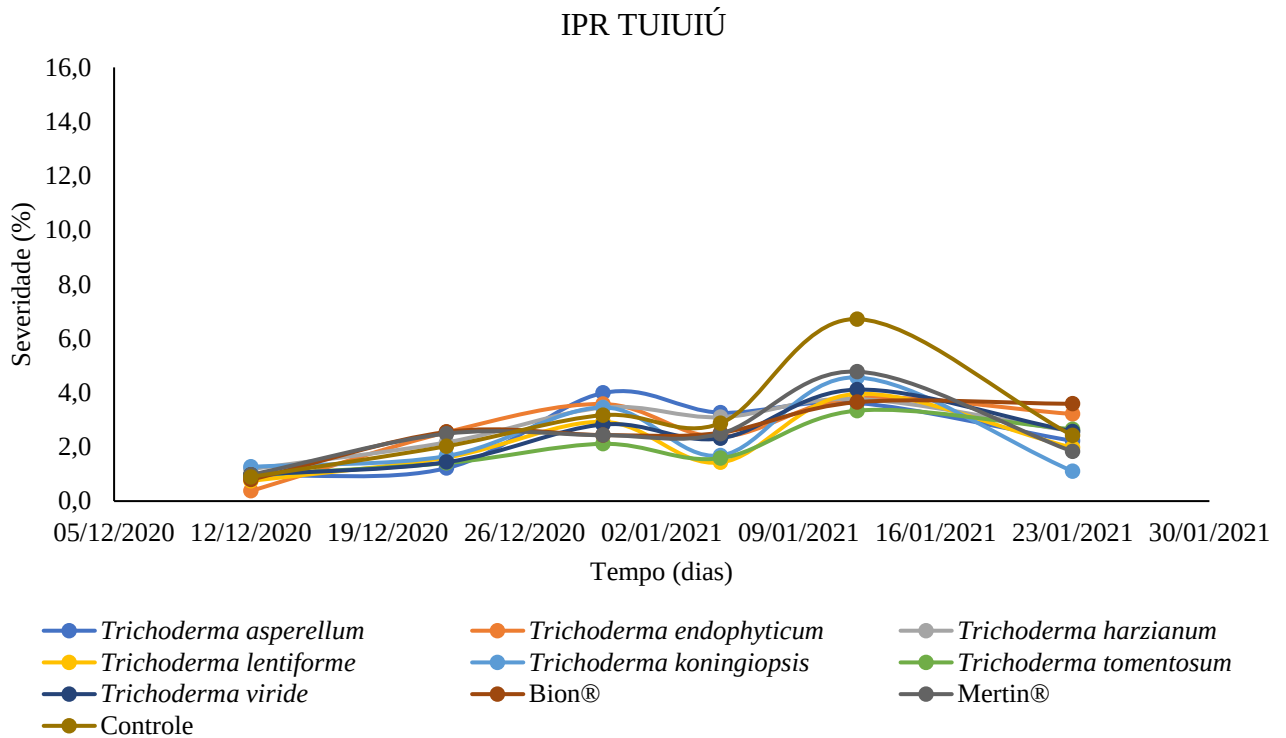


IPR QUERO-QUERO



Fonte: A autora.

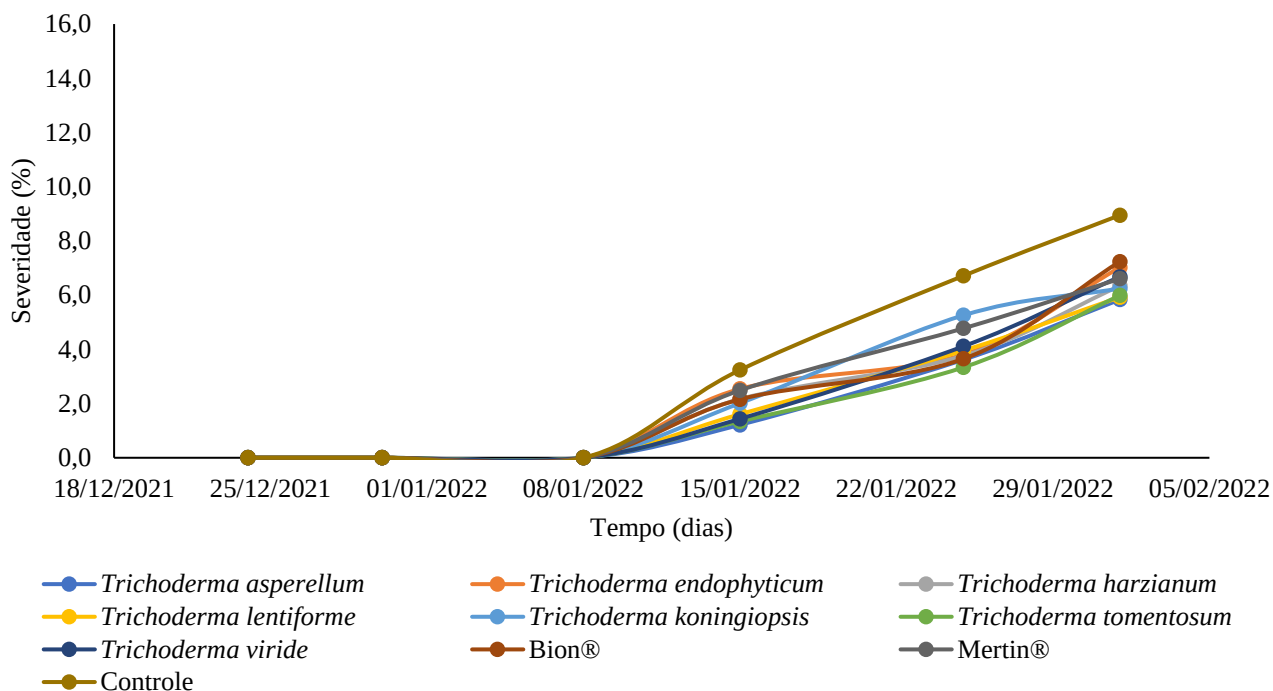
ANEXO B – Severidade (%) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, em função do tempo, safra 2020/2021. Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa – PR, 2022.



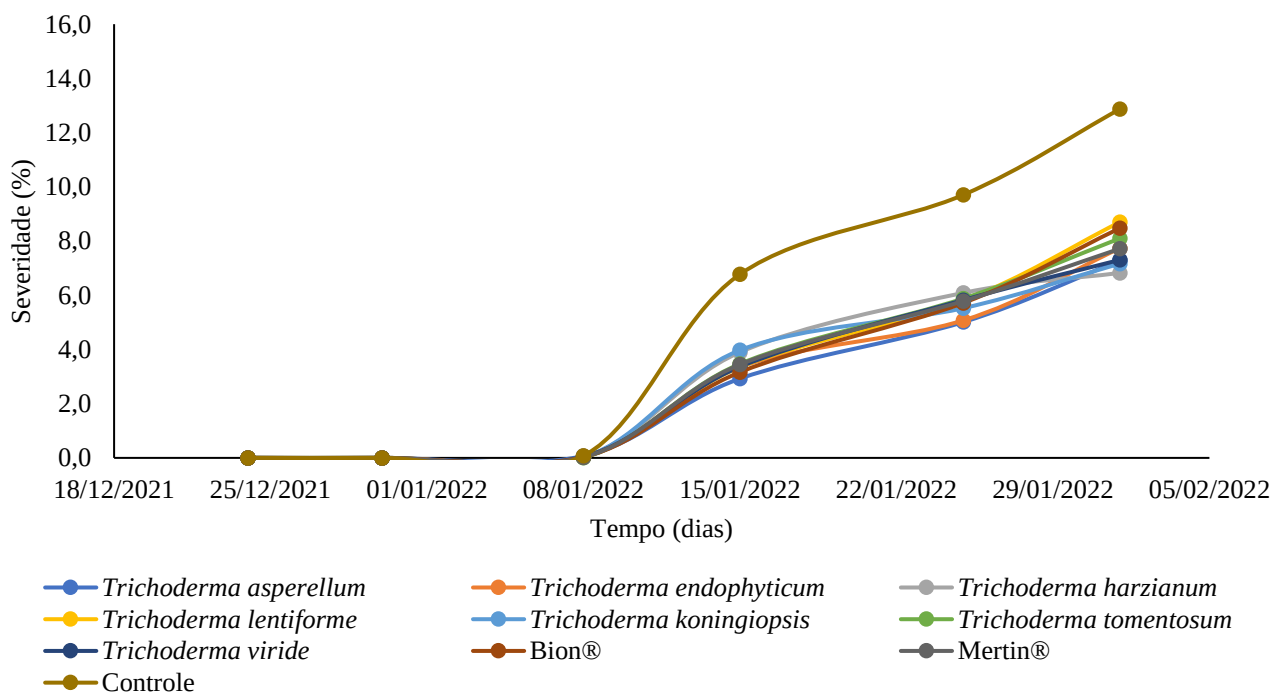
Fonte: A autora.

ANEXO C – Severidade (%) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivares IPR Tuiuiú e IPR Quero-Quero em campo, em função do tempo, safra 2021/2022. Fazenda Escola Capão da Onça, Ponta Grossa – PR, 2022.

IPR TUIUIÚ

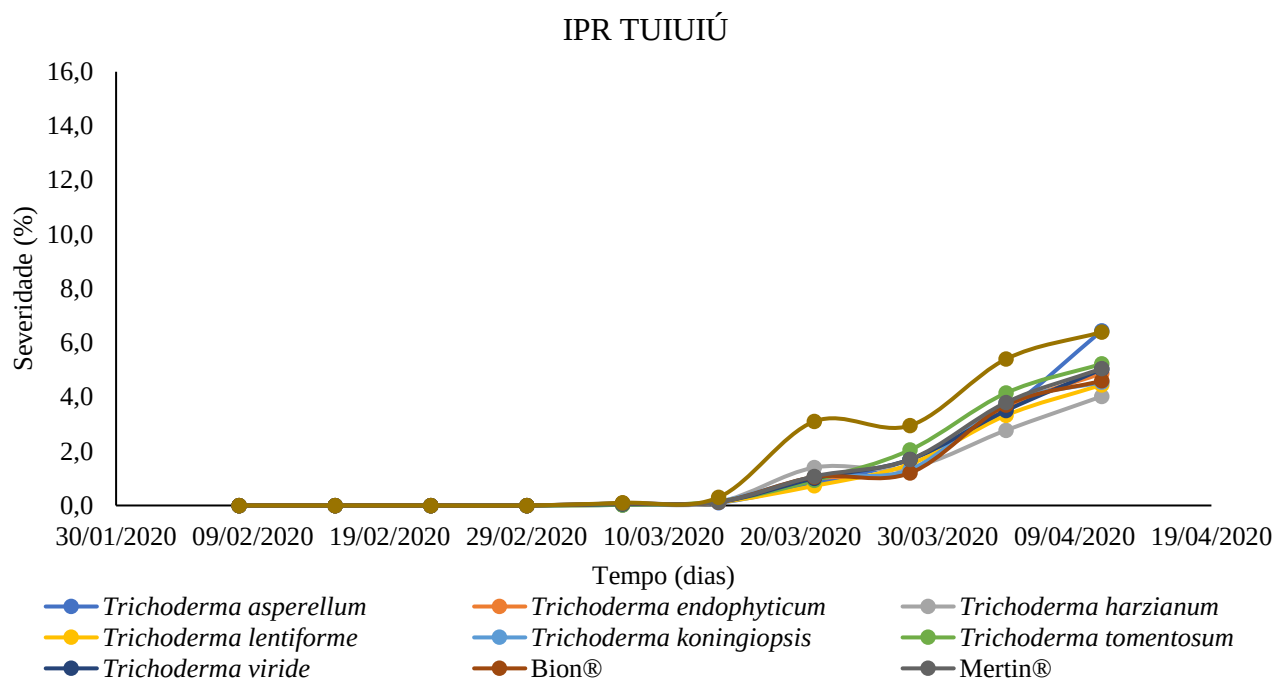


IPR QUERO-QUERO



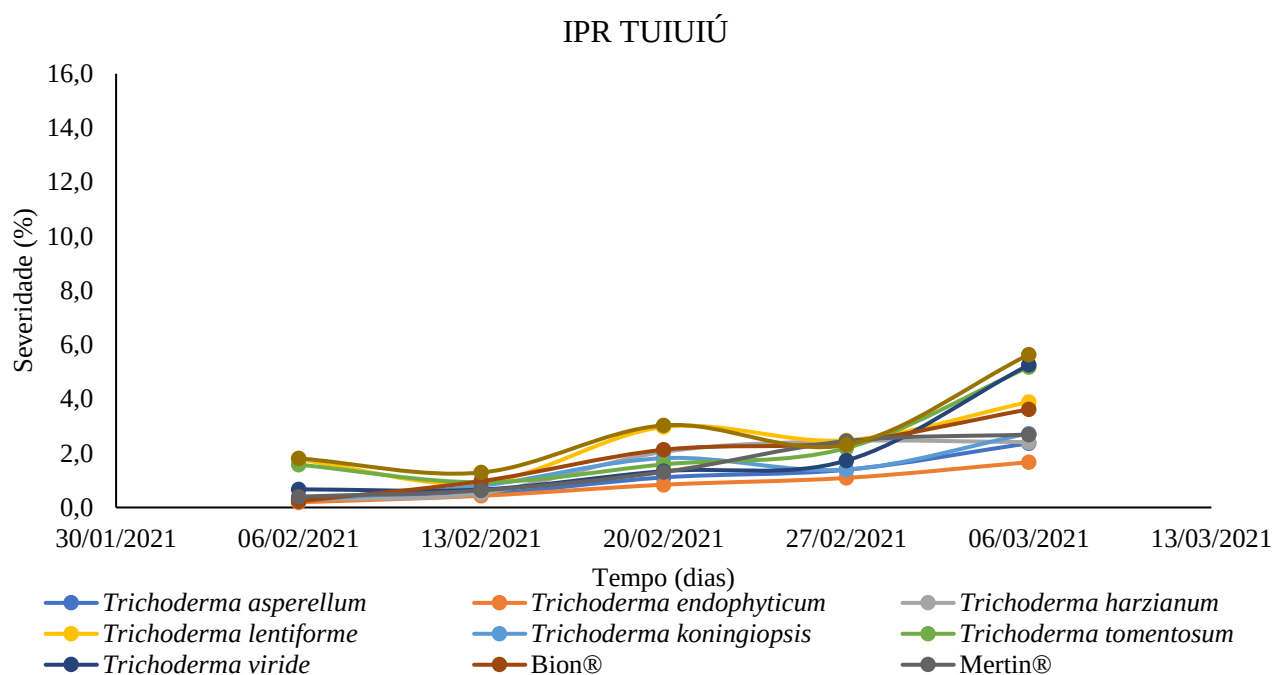
Fonte: A autora.

ANEXO D – Severidade (%) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivar IPR Tuiuiú em campo, em função do tempo, safra 2019/2020. Unidade Demonstrativa Experimental Oscar Rickli. Prudentópolis – PR, 2022.



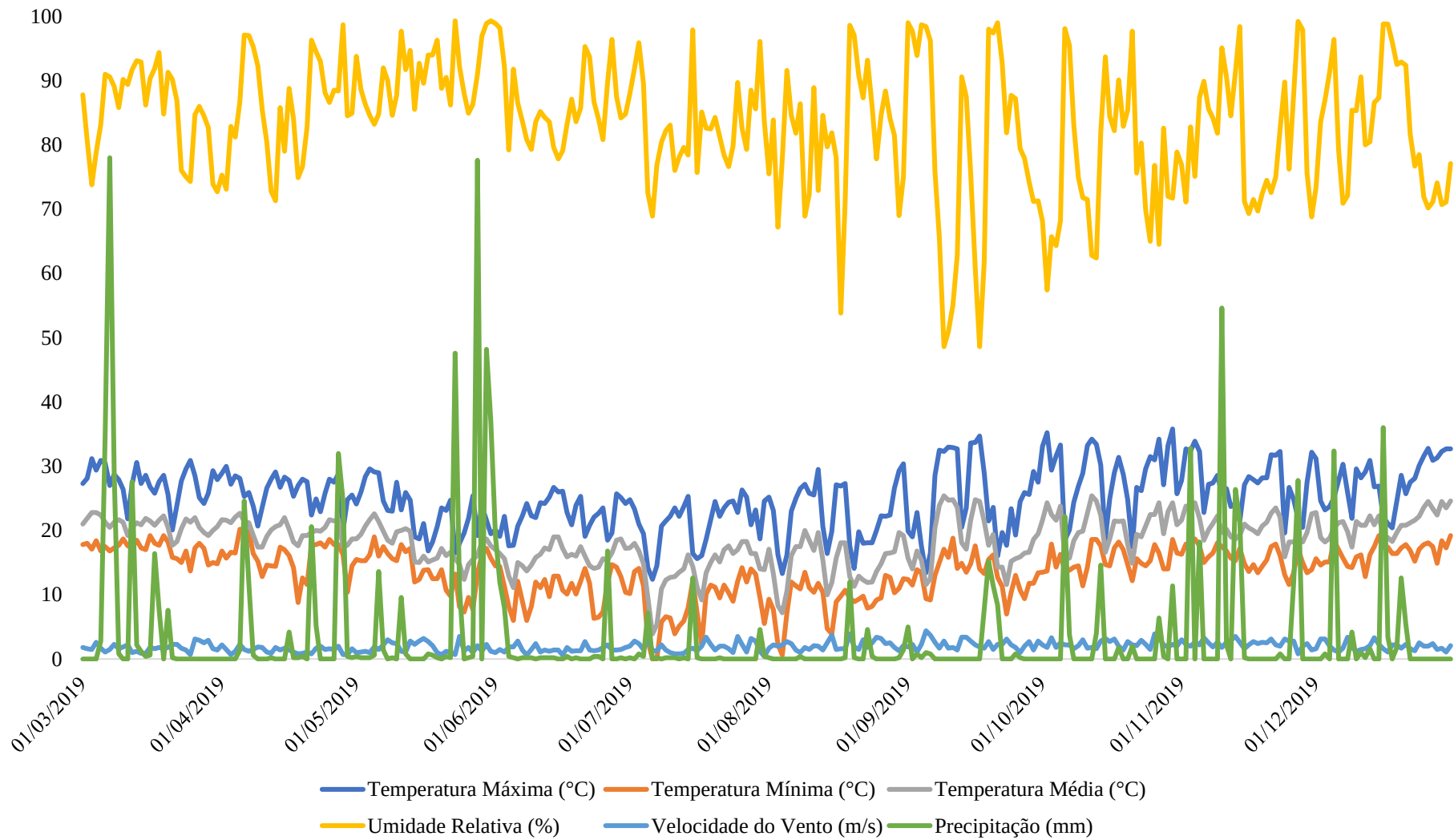
Fonte: A autora.

ANEXO E – Severidade (%) da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivar IPR Tuiuiú em campo, em função do tempo, safra 2020/2021. Fazenda Xaxim, Teixeira Soares – PR, 2022.



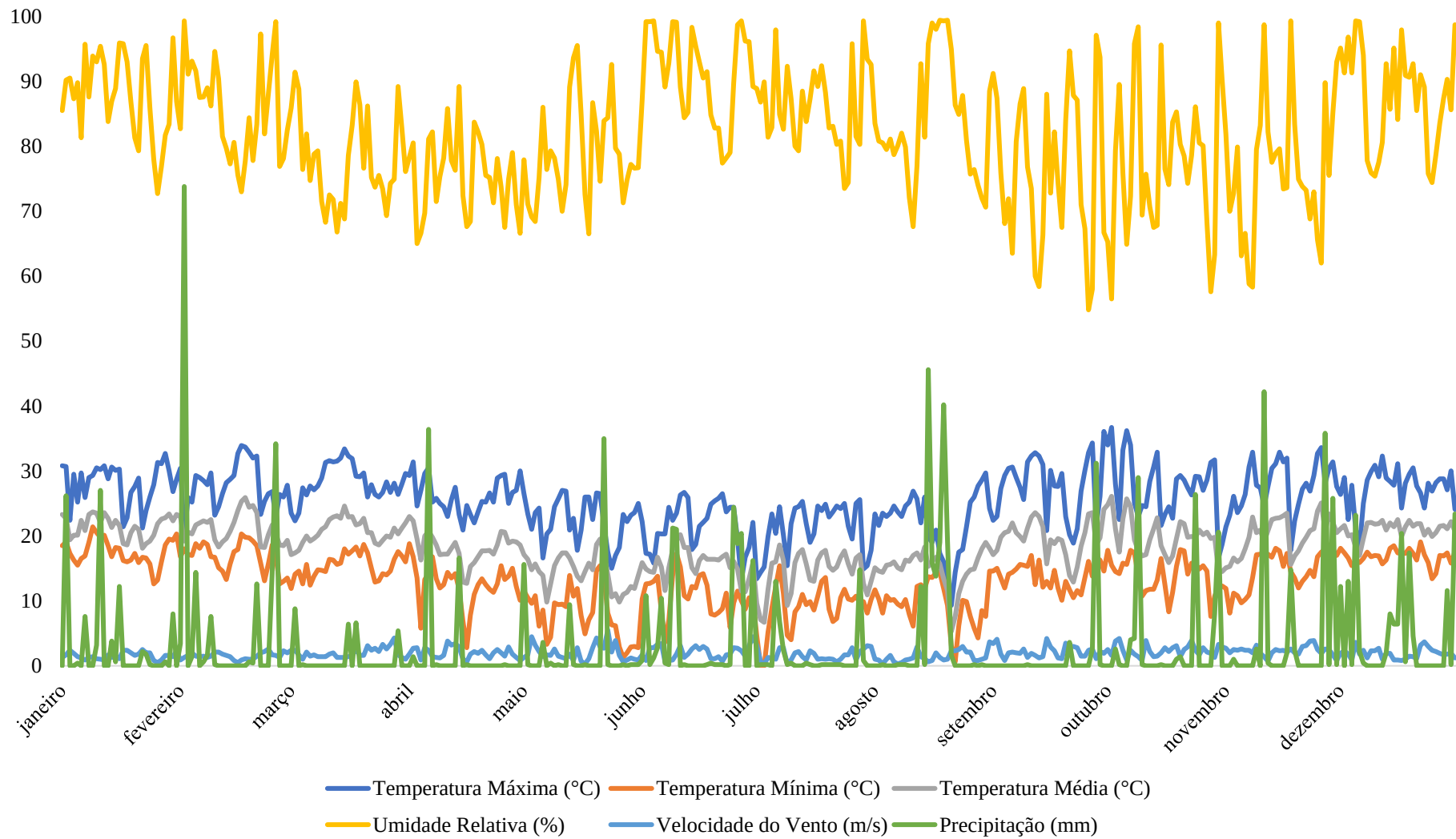
Fonte: A autora.

ANEXO F - Temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C), umidade relativa (%), velocidade do vento (m/s) e precipitação (mm) no período de março/2019 a dezembro/2019. Ponta Grossa – PR.



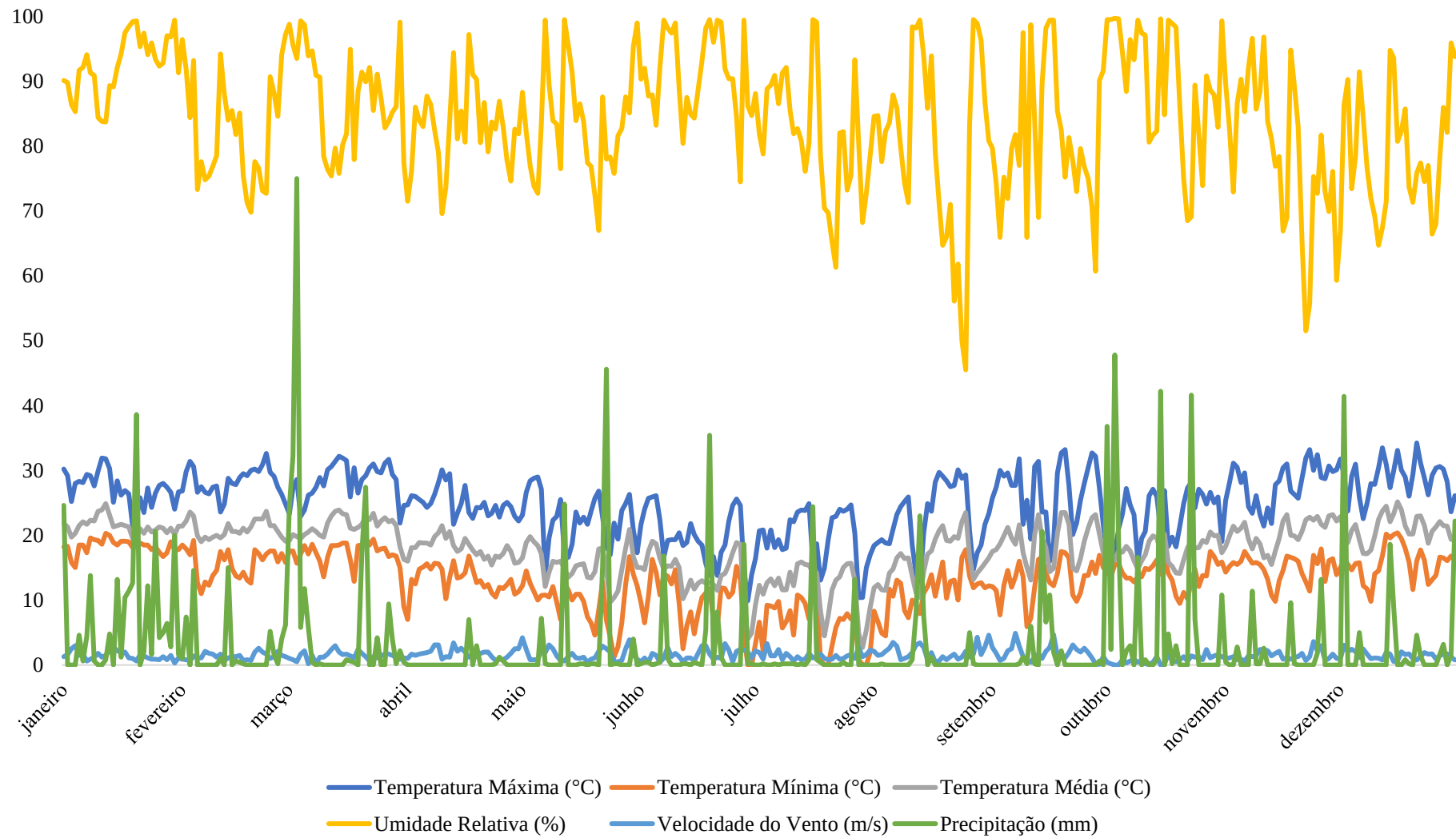
Fonte: Tsukahara *et al.* (2022).

ANEXO G - Temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C), umidade relativa (%), velocidade do vento (m/s) e precipitação (mm) no período de janeiro/2020 a dezembro/2020. Ponta Grossa – PR.



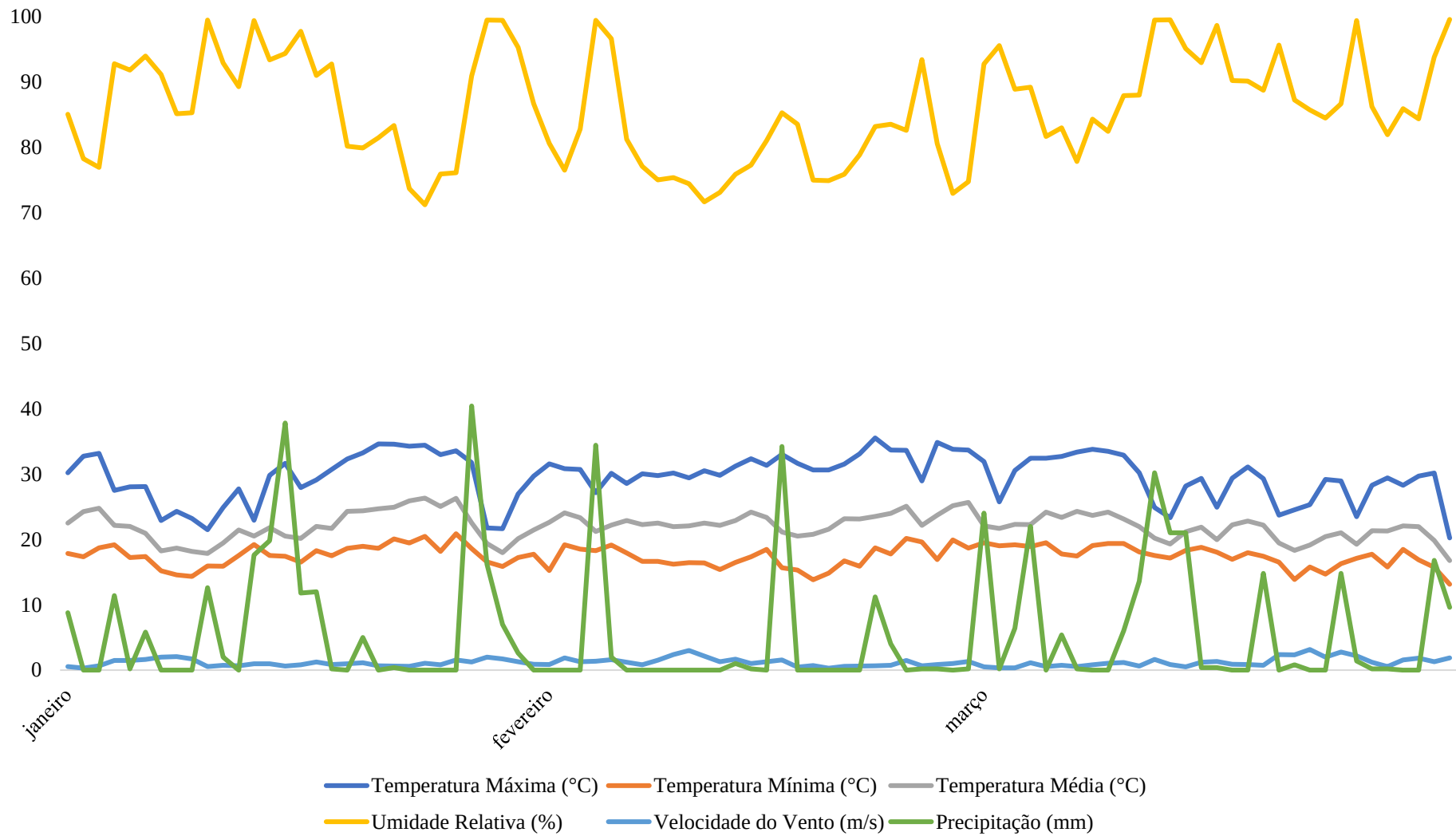
Fonte: Tsukahara *et al.* (2022).

ANEXO H - Temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C), umidade relativa (%), velocidade do vento (m/s) e precipitação (mm) no período de janeiro/2021 a dezembro/2021. Ponta Grossa – PR.



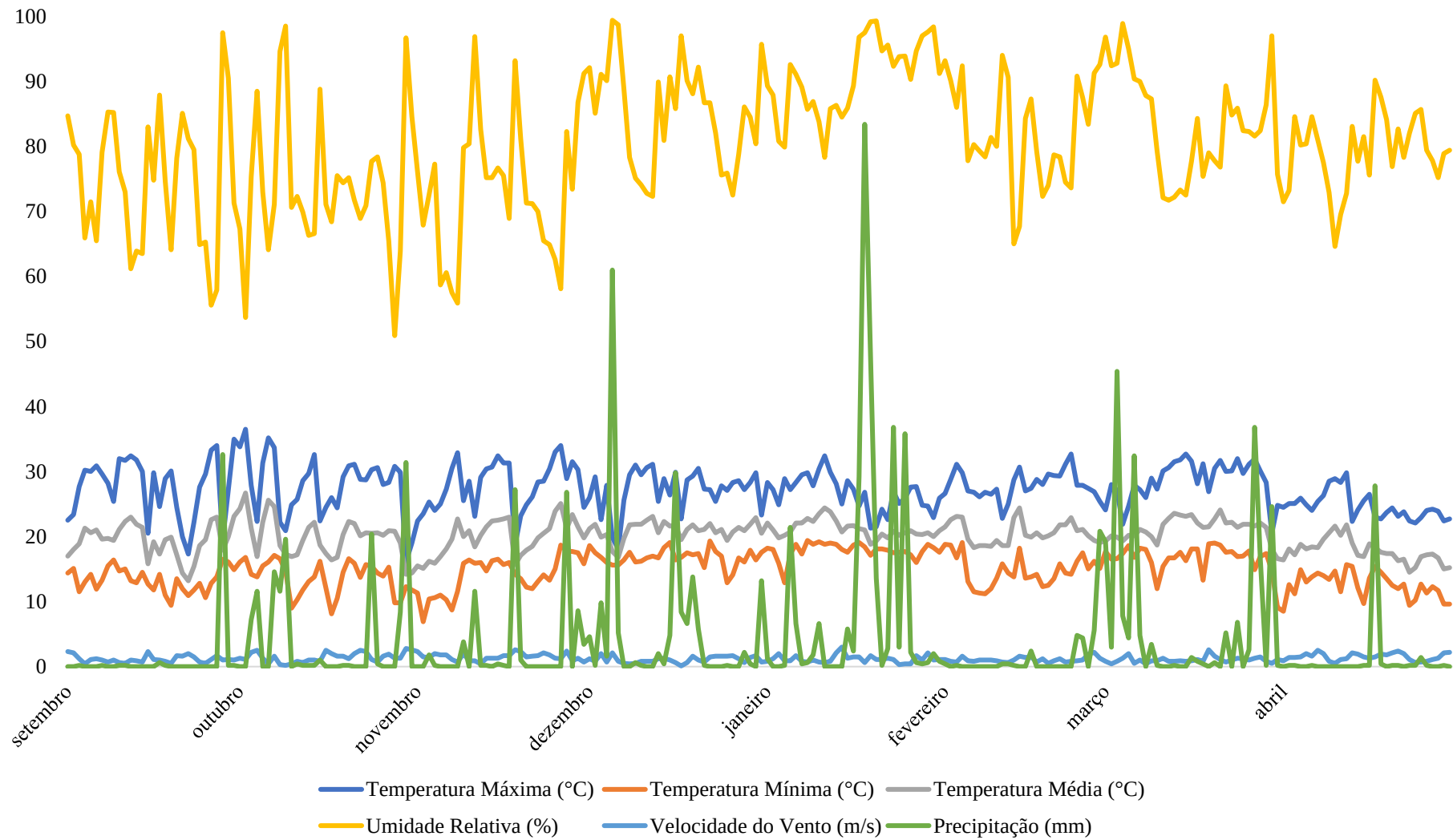
Fonte: Tsukahara *et al.* (2022).

ANEXO I - Temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C), umidade relativa (%), velocidade do vento (m/s) e precipitação (mm) no período de janeiro/2022 a março/2022. Ponta Grossa – PR.



Fonte: Tsukahara *et al.* (2022).

ANEXO J - Temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C), umidade relativa (%), velocidade do vento (m/s) e precipitação (mm) no período de setembro/2020 a abril/2021. Teixeira Soares – PR.



Fonte: Tsukahara *et al.* (2022).