

**REAÇÃO DE SUBAMOSTRAS DE FEIJÃO-FAVA À ANTRACNOSE
E SEU CONTROLE COM EXTRATO DE NIM**

GERUSA RODRIGUES DOS SANTOS CAVALCANTE

**TERESINA
Estado do Piauí – BRASIL
Julho – 2011**

**REAÇÃO DE SUBAMOSTRAS DE FEIJÃO-FAVA À ANTRACNOSE
E SEU CONTROLE COM EXTRATO DE NIM**

GERUSA RODRIGUES DOS SANTOS CAVALCANTE

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Agronomia do
Centro de Ciências Agrárias da
Universidade Federal do Piauí, para a
obtenção do Título de Mestre em
Agronomia, área de concentração:
Produção Vegetal.**

**TERESINA
Estado do Piauí – Brasil
Julho – 2011**

**REAÇÃO DE SUBAMOSTRAS DE FEIJÃO-FAVA À ANTRACNOSE
E SEU CONTROLE COM EXTRATO DE NIM**

GERUSA RODRIGUES DOS SANTOS CAVALCANTE
Engenheira Agrônoma

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina Lucia Ferreira Gomes

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eulália Maria Sousa Carvalho

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Agronomia do
Centro de Ciências Agrárias da
Universidade Federal do Piauí, para a
obtenção do Título de Mestre em
Agronomia, área de concentração:
Produção Vegetal.**

TERESINA
Estado do Piauí – Brasil
Julho – 2011

C376r

Cavalcante, Gerusa Rodrigues dos Santos

Reação de subamostra de feijão-fava à antracnose e seu controle com extrato de nim./ Gerusa Rodrigues dos Santos Cavalcante. – 2011.

62 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

Orientação : Prof.^a Dr.^a Regina Lúcia Ferreira Gomes.

1. *Phaseolus lunatus* 2. Folhas destacadas 3. Extrato de planta 4. *Azadirachta indica* 5. Resistência genética. I. Título.

CDD 635. 651

**REAÇÃO DE SUBAMOSTRAS DE FEIJÃO-FAVA À ANTRACNOSE
E SEU CONTROLE COM EXTRATO DE NIM**

GERUSA RODRIGUES DOS SANTOS CAVALCANTE
Engenheira Agrônoma

Aprovada em: 04 / 07/ 2011

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima
Centro de Ciências Agrárias/UFAL

Prof^a. Dr^a. Ângela Celis de Almeida Lopes
Departamento de Biologia/CCN/UFPI

Prof^a. Dr^a. Eulália Maria Sousa Carvalho
Departamento de Fitotecnia/CCA/UFPI
Co-Orientadora

Prof^a. Dr^a. Regina Lucia Ferreira Gomes
Departamento de Fitotecnia/CCA/UFPI
Orientadora

“Posso todas as coisas naquele que me fortalece.

(Filipenses 4:13)

Aos meus pais Raimundo e Felismina

Ao meu esposo Mauro

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por ser minha força e minha confiança, e por provar que sempre está comigo;

À Universidade Federal do Piauí, pela oportunidade de realização do trabalho e do curso;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Piauí (FAPEPI), pela concessão da bolsa de mestrado;

À Prof^a. Dr^a. Eulália Maria Sousa Carvalho, pela oportunidade de trabalhar ao seu lado, pelos incentivos, conselhos e ensinamentos, pela cobrança, orientação e especialmente pela amizade;

À Prof^a. Dr^a. Regina Lucia Ferreira Gomes, pelo incentivo, pelos ensinamentos, pela cobrança, orientação e, sobretudo pela amizade;

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Santos Carvalho, pela importante ajuda na realização do trabalho e a pelos ensinamentos no estágio a docência;

Ao Prof. Dr. João Batista Lopes pela ajuda nas análises estatísticas do trabalho;

Aos meus pais, Raimundo Nonato dos Santos e Felismina Rodrigues dos Santos, pelo amor, força, ajuda, compreensão e por darem crédito aos meus sonhos;

Ao meu esposo Mauro Alves Cavalcante, pela ajuda no desenvolvimento do experimento, pelo companheirismo e paciência;

À minha família, pelo incentivo e por entender às vezes em que não pude estar presente;

Aos meus colegas do mestrado, em especial aos amigos: Lusiene Barbosa Sousa, Elizangela P. da Silva Sousa, Iúna Carmo R. Gonçalves, Almerinda Amélia R. Araújo, Sávio Braga Castelo Branco e Francisco Ferreira de Lima;

À funcionária do Laboratório de Fitossanidade, Antônia da Cruz Farias (Toinha), pela ajuda durante o experimento, pela sua grande amizade, consideração, incentivo e apoio e pelos conselhos que serão sempre lembrados;

Aos estudantes de graduação em Agronomia: Priscila Santos Barros, Ananda Rosa Bezerra Santos, Cleidiane Maria Pereira M. Santos e Francisco das Chagas A. P. Nunes, pela amizade e importante ajuda na realização do experimento;

Aos colegas Raimundo Nonato, Verônica Brito e Leane Fialho pela importante contribuição na realização desse trabalho;

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse sonho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO GERAL	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
4. CAPÍTULO I.....	30
Reação de subamostras de feijão-fava a antracnose	
RESUMO	30
ABSTRACT	31
4.1. INTRODUÇÃO	31
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	33
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.4. CONCLUSÕES.....	41
4.5. REFERÊNCIAS	41
5. CAPÍTULO II.....	45
Extrato de nim no controle da antracnose em feijão-fava	
RESUMO	45
ABSTRACT	46
5.1. INTRODUÇÃO	47
5.2. MATERIAL E MÉTODOS	48
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.4. CONCLUSÕES.....	57
5.5. REFERÊNCIAS	58
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Folha de feijão-fava destacada não inoculada (A), inoculada (B) e acondicionada na incubadora (C)..... 35

CAPITULO II

Figura 1. Isolado CT4 de *Colletotrichum truncatum* em meio de cultura feijão-dextrose-ágar (FDA) (A), esporos (B) e acérvulos (C)..... 49

Figura 2. Folha de feijão-fava destacada, em placa de Petri (A); folha pulverizada com extrato de nim (B) e acondicionada em incubadora (C) 53

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1.** Relação das subamostras de feijão-fava avaliadas em Teresina – PI, 2010 34
- Tabela 2.** Médias de severidade (SEV) e reação (R) das subamostras de feijão-fava a *Colletotrichum truncatum*, aos cinco e sete dias após a inoculação (DAI). Teresina – PI, 2010 38
- Tabela 3.** Médias das subamostras e das respectivas testemunhas, aos cinco e sete dias após a inoculação (DAI). Teresina-PI, 2010 40

CAPITULO II

- Tabela 1.** Relação das subamostras de feijão-fava avaliadas quanto ao efeito do extrato bruto aquoso de folhas de nim no controle da antracnose. Teresina – PI, 2010 51
- Tabela 2.** Efeito do extrato bruto aquoso (EBA) de nim no diâmetro da colônia e produção de conídios de *Colletotrichum truncatum*. Teresina-PI, 2010 54
- Tabela 3.** Médias de severidade (SEV) e testemunhas (TEST) das subamostras de feijão-fava a *Colletotrichum truncatum* com extrato de nim aos cinco e sete dias após a inoculação (DAI). Teresina – PI, 2010 56

REAÇÃO DE SUBAMOSTRAS DE FEIJÃO-FAVA À ANTRACNOSE E SEU CONTROLE COM EXTRATO DE NIM

Autora: Gerusa Rodrigues dos Santos Cavalcante

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina Lucia Ferreira Gomes

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eulália Maria Sousa Carvalho

RESUMO

O feijão-fava é a segunda espécie mais cultivada do gênero *Phaseolus* e importante fonte de proteína para a população da região nordeste do Brasil. Apesar da grande adaptação às condições edafoclimáticas nessa região, apresenta baixo rendimento devido, entre outros fatores, à ocorrência de doenças como a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*. Objetivou-se avaliar a reação de subamostras de feijão-fava à antracnose e avaliar o uso do nim (*Azadirachta indica*) no controle do fungo e da doença. Para a avaliação da resistência foram utilizadas folhas destacadas inoculadas com *C. truncatum*. A severidade da doença foi estimada através de escala de notas e as subamostras agrupadas em cinco classes de acordo com a resistência. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. O efeito do nim sobre o crescimento e esporulação do fungo foi avaliado empregando-se extrato bruto aquoso (EBA) de folhas a 20% adicionado ao feijão-dextrose-ágar (FDA), por meio da medição do diâmetro da colônia e remoção seguida da determinação da concentração dos esporos em câmara de Neubauer. Para a avaliação no controle da antracnose foram utilizadas folhas destacadas de 15 subamostras de feijão-fava pulverizadas com o EBA de nim a 20% 24 h antes da inoculação do fungo. A severidade da doença foi avaliada utilizando a mesma escala de notas empregada no experimento anterior. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Em folhas destacadas, a maioria das subamostras de feijão-fava avaliada apresentou baixo nível de resistência à antracnose. As subamostras UFPI 251 e UFPI 673 comportaram-se como altamente resistentes, aos cinco e sete dias após a inoculação, sendo, portanto promissoras

para utilização em programas de melhoramento da cultura. O EBA de folhas de nim a 20% reduziu parcialmente o crescimento, não inibiu a esporulação de *C. truncatum* e quando aplicado em folha destacada de feijão-fava, não mostrou ação no controle da antracnose.

Palavras-chave: *Phaseolus lunatus*, folha destacada, extrato de planta, *Azadirachta indica*, resistência genética.

SUBSAMPLE REACTION IN ANTHRACNOSE IN LIMA BEAN AND THE CONTROL WITH NEEM EXTRACT

Author: Gerusa Rodrigues dos Santos Cavalcante

Adviser: Prof^a. Dr^a. Regina Lucia Ferreira Gomes

Co-Adviser: Prof^a. Dr^a. Eulália Maria Sousa Carvalho

ABSTRACT

The Lima bean is the second most cultivated specie of the genus *Phaseolus* and important protein source for the population in Brazilian northeast. Although the Lima bean has a high adaptation to edaphoclimatic conditions in this region, it shows low yield due to the occurrence of diseases such as anthracnose that is caused by the fungus *Colletotrichum truncatum*. So this work aimed to evaluate the reaction of the Lima bean subsample to anthracnose and evaluate the use of the Neem (*Azadirachta indica*) in control on the fungus and the disease. To do the resistance evaluation was used detached leaves and after this inoculated in *C. truncatum*. The disease severity was estimated by a grade scale and the subsamples were put in groups of five classes according to the resistance. For the experimental design was used the completely randomized (CR) with four replicates. The neem effect on the fungus growth and sporulation was evaluated using aqueous crude extract (ACE) of leaves to 20% added to the beans-dextrose-agar (BDA), by measuring the colony diameter and removal followed by the determination of spore concentration in Neubauer chamber. For that could do the evaluation on anthracnose control, it was used detached leaves from 15 Lima bean subsamples that were, 24 hours before inoculation of the fungus, sprayed with ACE of neem to 20%. In relation to the disease severity, it was continued using the same grade scale like in previous experiment, to do the evaluation. It was used the completely randomized design with four replications. The detached leaves from Lima bean subsamples showed a low resistance level mostly. The behavior of UFPI 251 and UFPI 673 subsamples showed a high resistance in five and seven days after inoculation and an excellent performance for the using in crop improvement programs. The ACE in neem leaves to 20% partly reduced the growth; however no inhibited the *Colletotrichum truncatum*

sporulation and when the ACE was administrated in detached leaves from Lima bean, did not show effect on anthracnose control.

Key words: *Phaseolus lunatus*, detached leaf, plant extract, *Azadirachta indica*, genetic resistance.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A fava (*Phaseolus lunatus*, L.), também conhecida como feijão-fava ou feijão-de-lima, pertence à família Fabaceae e foi domesticada no continente americano (CRONQUIST, 1988; ZIMMERMANN; TEIXEIRA, 1996). Entre as espécies cultivadas do gênero *Phaseolus*, é a segunda espécie mais plantada. No nordeste do Brasil, é considerada uma importante fonte de proteína para a população, onde é consumida em forma de grãos maduros ou verdes (OLIVEIRA et al., 2004). Apresenta ampla adaptabilidade, embora se comporte melhor em climas quentes e úmidos (GUIMARÃES, 2005).

No Brasil, o feijão-fava é plantado principalmente na região Nordeste. Em 2009, a produção foi de 17.078 toneladas, das quais 8.758 toneladas foram produzidas pelo estado da Paraíba, o maior produtor de feijão-fava do país, com rendimento médio de 431 Kg de grãos ha⁻¹. O Piauí, também em 2009, produziu 760 toneladas, com rendimento médio de 363 Kg de grãos ha⁻¹ (IBGE, 2011). Essa produção é proveniente de pequenos cultivos, em locais de difícil acesso, nos quais são adotados os métodos mais tradicionais de plantio, o que tem contribuído, entre outros fatores, para o baixo rendimento da cultura (SILVA et al., 2010a).

As doenças de plantas são responsáveis pela redução da produtividade em diversas culturas, inclusive em feijão-fava (SILVA et al., 2010b). Dentre essas, a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*, tem se destacado no estado do Piauí, sendo objeto de estudos (CARVALHO, 2009). Segundo PAULA JÚNIOR et al. (1995), a antracnose é frequentemente encontrada no Brasil, especialmente na região nordeste e precisa ser melhor estudada.

A técnica da folha destacada tem sido usada para avaliar resistência a doenças de várias culturas como o feijão (RIOS et al., 2001), a soja (KAMIKOGA, 2001) e feijão-fava (CARVALHO, 2009). O seu emprego, segundo MEDEIROS (2009), apresenta como vantagens a economia de espaço, material do hospedeiro,

inóculo dos patógenos, facilidade e exatidão das observações, menor risco de contaminações, uniformidade da unidade experimental, facilidade de controle e manipulação dos ambientes.

Em estudos da avaliação da resistência do feijoeiro a *Uromyces appendiculatus*, RIOS et al. (2001) constataram que as reações de feijoeiro à ferrugem em folhas destacadas foram semelhantes às observadas em folhas intactas. KAMIKOGA (2001) cita que o método folha destacada mostrou-se prático e eficiente na avaliação da resistência de soja ao oídio. RAGAGNIN et al. (2005) empregaram folhas destacadas de feijoeiro para avaliar a reação a *C. lindemuthianum* e concluíram que a técnica mostrou-se eficiente tanto para a identificação de patótipos do fungo como para testes de resistência/suscetibilidade de genótipos do hospedeiro. Em relação à antracnose de feijão-fava, CARVALHO (2009) comprovou a viabilidade do emprego da técnica de folhas destacadas em estudos relacionados a essa doença.

A resistência de um hospedeiro pode ser definida como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos (PASCHOLATI; LEITE 1995). Portanto, a primeira etapa básica em qualquer programa de obtenção e utilização de cultivares resistentes é a identificação de fontes de resistência, ou seja, identificar germoplasma que possua os genes de resistência procurados (CAMARGO; BERGAMIN FILHO, 1995).

O uso de agrotóxicos, que prejudica o meio ambiente e afeta a saúde humana, tem levado a busca por métodos alternativos que possam controlar pragas e doenças diminuindo ou excluindo, em plantios menores, o uso de defensivos. Nesse sentido, o uso de plantas bioativas tem sido empregada no controle de insetos praga e patógenos de várias culturas (SALLES; RECH, 1999; CARVALHO, 2010). Compostos secundários de plantas podem desempenhar funções importantes nas interações planta-patógeno, atuando diretamente sobre o crescimento do patógeno, como substância fungitóxica, ou ativando os mecanismos de defesa do hospedeiro (STANGARLIN et al., 1999).

Entre as diversas espécies estudadas visando controlar pragas e doenças, o nim (*Azadirachta indica* A. Juss) representa uma das mais promissoras. É uma planta de origem asiática, mas de ocorrência também em áreas tropicais e subtropicais da África, Américas e Austrália (NEVES et al., 2003). Apesar de ter sido

recentemente introduzida na região Nordeste do Brasil, encontra-se amplamente distribuída na região norte do estado do Piauí aonde vem sendo utilizada na arborização urbana (CARVALHO, 2010).

O controle de doenças de plantas através do emprego de cultivares resistentes é, portanto, uma importante ferramenta no manejo integrado de doenças, visto que apresenta reduzido impacto ambiental, baixo custo de produção e limitada necessidade de adoção de insumos para o controle (COSTA et al., 2009). A utilização de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleo essencial de plantas pode se constituir, ao lado dessa ferramenta em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças. Neste sentido, objetivou-se avaliar a reação de subamostras de feijão-fava a antracnose e avaliar o uso do nim no controle do fungo e da doença.

A dissertação foi estruturada em dois capítulos, cujos títulos foram: “Reação de subamostras de feijão-fava à antracnose” e “Extrato de nim no controle da antracnose em feijão-fava”.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais sobre o feijão-fava

O feijão-fava domesticado no continente americano (ZIMMERMANN; TEIXEIRA, 1996), pertence ao filo Magnoliophyta, à classe Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae e gênero *Phaseolus* (CRONQUIST, 1988). Esse gênero agrupa cinco espécies cultivadas e cerca de cinquenta espécies silvestres. Entre as espécies cultivadas, *P. vulgaris* L., (feijão-comum) e *P. lunatus* L., (feijão-fava) são as mais importantes (DEBOUCH, 1991).

Na espécie *P. lunatus* L., encontram genótipos apresentando ciclo anual, bianual ou perene, germinação epígea e hábito de crescimento indeterminado ou determinado (BEYRA; ARTILES, 2004). Suas vagens são achatadas, curvas, coriáceas, pontiagudas, de coloração bege quando secas, contendo de 2 a 4 sementes (YAGUIU et al., 2003).

A cultura do feijão-fava é bem adaptada a solos tropicais. Tem relativa importância econômica e social, por causa da sua rusticidade, tendo a colheita prolongada e realizada no período seco (YAGUIU et al., 2003; AZEVEDO et al., 2003). Embora seu consumo seja menor do que o feijão-comum, representa uma importante fonte de proteína para a população da região Nordeste do Brasil, visto que algumas variedades como as de tegumento bege-claro apresentam um teor de proteína (26,7%) superior ao de algumas variedades de feijão-comum tipo carioca (23,8%) e ligeiramente inferior ao encontrado em genótipos de feijão-caupi (29,29%) (AZEVEDO et al., 2003; LEMOS et al., 2004; SILVA et al., 2002).

2.2. A antracnose em feijão-fava

O feijão-fava, apesar de apresentar grande adaptação às condições edafoclimáticas do Nordeste brasileiro, tem sua produtividade reduzida devido entre outros fatores à ocorrência de doenças (SILVA et al., 2010b). Dentre essas doenças estão as viroses (SENGOOBA et al., 1997; MELGAREJO et al., 2007), míldio

(DAVIDSON et al., 2008), podridão de raiz e do colo (DAVIDSON et al., 2002; SILVA et al., 2010b), ferrugem (BONDE et al., 2008) e antracnose (VIEIRA et al., 1992; CARVALHO, 2009).

A antracnose, causada principalmente por fungos do gênero *Colletotrichum*, ocorre em várias culturas de importância econômica causando perda de produção, como na soja (COSTA et al., 2006; 2009) e no feijão-comum (COSTA et al., 2003; MEDEIROS et al., 2008). Em feijão-fava, segundo PAULA JÚNIOR et al. (1995), a antracnose é frequentemente encontrada no Brasil, especialmente na região Nordeste e precisa ser melhor estudada. Contudo, existem poucos registros de doenças nessa cultura no país, devido, provavelmente, à sua pouca exploração econômica (CARVALHO, 2009). Em estudos de comparações entre feijões dos gêneros *Vigna* e *Phaseolus*, VIEIRA et al. (1992) constataram-se que o feijão-fava, em todos os ensaios, foi atacado por uma doença não identificada, que provocava o aparecimento de manchas avermelhadas em suas folhas. CARVALHO (2009), em estudos de caracterização do agente causal da antracnose em feijão-fava, concluiu, com base nas características morfológicas e culturais do fungo, que se tratava da espécie *Colletotrichum truncatum*.

Os sintomas da antracnose do feijão-fava são manchas avermelhadas inicialmente observadas ao longo das nervuras, na face inferior das folhas e sobre hastes e pecíolos jovens. Nas vagens, as lesões são deprimidas, grandes e avermelhadas, sobre as quais se formam os acérvulos do patógeno, com aspecto de uma massa esbranquiçada, de onde saem numerosas setas (PAULA JÚNIOR et al., 1995).

2.3. Resistência genética e o desenvolvimento de cultivares resistentes

A resistência genética é uma estratégia que tem sido largamente utilizada no controle de fitopatógenos por apresentar os melhores resultados para diversas culturas (BRAMMER et al., 2011). Assim, o desenvolvimento de cultivares resistentes é de grande importância no manejo integrado visto que apresenta reduzido impacto ambiental, baixo custo de produção e limitada necessidade de adoção de insumos para o controle de doenças (COSTA et al., 2009).

A resistência de um hospedeiro pode ser definida como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente atividade de um patógeno

em seus tecidos através de mecanismos como os estruturais que atuam como barreiras físicas impedindo a entrada e colonização dos tecidos e os bioquímicos que ocorrem nas células do hospedeiro onde produzem substâncias que mostram-se tóxicas ao patógeno ou criam condições adversas para o crescimento do mesmo no interior da planta (PASCHOLATI; LEITE 1995). Portanto, a primeira etapa básica em qualquer programa de obtenção e utilização de cultivares resistentes é a identificação de fontes de resistência, ou seja, identificação de germoplasma que possua os genes de resistência procurados (CAMARGO; BERGAMIN FILHO, 1995).

Na literatura há registros de fontes de resistência para diversas culturas e doenças. Em feijão-caupi, cultivares resistentes a mela e a antracnose (NECHET; HALFELD-VIEIRA, 2007; BELMINO, 2004); em feijoeiro comum, genótipos resistentes a mancha angular (SARTORATO, 2006) e a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (SALA et al., 2006); em soja, cultivares resistentes a *C. truncatum* (COSTA et al., 2006); em batata, resistência de cultivares a requeima (DUARTE, 2009); em feijão-fava, genótipos resistentes a *Sclerotium rolfsii* (SILVA et al., 2010b), dentre outros. No entanto, para o feijão-fava não há relatos de material resistente a antracnose.

2.4. A técnica da folha destacada

A utilização do método de folhas destacadas em estudos com agentes de doenças de plantas é descrito em trabalhos realizados há mais de meio século (KAMIKOGA, 2001). O seu emprego, segundo MEDEIROS (2009), apresenta como vantagens a economia de espaço, de material do hospedeiro, de inóculo dos patógenos, facilidade e exatidão das observações, menor risco de contaminações, uniformidade da unidade experimental, facilidade de controle e manipulação dos ambientes. A técnica da folha destacada é de grande utilidade e apresenta vantagens com relação a outras técnicas tradicionalmente utilizadas na avaliação de resistências genéticas às doenças da parte aérea (RIOS et al., 2001).

A técnica da folha destacada tem sido empregada em muitos estudos envolvendo relações patógeno-hospedeiro. RIOS et al. (2001) em estudos da avaliação da resistência do feijoeiro a *Uromyces appendiculatus*, constataram que as reações de feijoeiro à ferrugem em folhas destacadas foram semelhantes às observadas em folhas intactas. KAMIKOGA (2001) cita que o método folha

destacada mostrou-se prático e eficiente na avaliação da resistência de soja ao oídio. RAGAGNIN et al. (2005) empregaram folhas destacadas de feijoeiro para avaliar a reação a *Colletotrichum lindemuthianum* e concluíram que a técnica se mostrou eficiente tanto para a identificação de patótipos do fungo como para testes de resistência/suscetibilidade de genótipos do hospedeiro. Com relação à antracnose em feijão-fava, CARVALHO (2009) comprovou a viabilidade do emprego da técnica de folhas destacadas em estudos relacionados à doença.

2.5. O uso do nim no controle de doenças

Na natureza, a maioria das plantas é resistente aos diferentes patógenos com os quais convivem e essa resistência pode estar relacionada à existência de substâncias antifúngicas naturalmente produzidas (LEMOS et al., 1990). Portanto, espera-se que a descoberta de metabólitos naturais sintetizados pelas diversas plantas que compõem a flora nativa e que apresentam efeito antimicrobiano, possa contribuir para o controle das doenças das plantas. Logo, a exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleo essencial de plantas pode se constituir, ao lado da indução de resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (CARVALHO, 2010).

Compostos secundários de plantas podem desempenhar funções importantes nas interações planta-patógeno, atuando diretamente sobre o crescimento do patógeno, como substância fungitóxica, ou ativando os mecanismos de defesa do hospedeiro (STANGARLIN et al., 1999). Essas substâncias são compostos biossinteticamente derivados de metabólicos primários e não têm função aparente, mas têm importante papel ecológico servindo, entre outros, como defesa química contra microrganismos, insetos e predadores (GUIRADO et al., 2004; ALMEIDA et al., 2009). Estudos têm demonstrado que óleos e extratos de folhas de algumas espécies vegetais são eficientes no controle de doenças de plantas, seja pela ação fungitóxica direta ou pelo aumento no nível de resistência às doenças da cultura tratada (CARNEIRO et al., 2007).

O nim (*Azadirachia indica* A. Juss) é uma planta de origem asiática, mas de ocorrência também em áreas tropicais e subtropicais da África, Américas e Austrália (NEVES et al., 2003). Apesar de ter sido recentemente introduzida na região

Nordeste do Brasil encontra-se amplamente distribuída na região Norte do estado do Piauí, aonde vem sendo utilizada na arborização urbana (CARVALHO, 2010).

O nim, pertence à família Meliaceae e é usado há séculos na produção de madeira, como planta medicinal, e mais recentemente como inseticida. Vários autores (MEDICE et al., 2007; CARNEIRO et al., 2007; BAPTISTA et al., 2009) têm mostrado a possibilidade de controle também de fitopatógenos com produtos do nim, o que seria bastante vantajoso considerando-se o efeito simultâneo sobre pragas e doenças, reduzindo assim o número de produtos usados na lavoura (CARNEIRO, 2003).

Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial obtido a partir de plantas medicinais da flora nativa indicam o potencial das mesmas no controle de alguns fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características de elicitores (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000). Em nim, a principal substância bioativa estudada, e que pode estar envolvida na ação antifúngica, é a azadiractina, um triterpeno oxigenado presente nas folhas, frutos e sementes (NEVES et al., 2003).

MEDICE et al. (2007) ao avaliarem o efeito de óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja constataram que o óleo de nim, nas concentrações de 1%, 0,5% e 0,3% interferiu na germinação de uredinósporos de *Phakopsora pachyrhizi* e foi capaz de reduzir a severidade da ferrugem em condições de casa de vegetação. CARNEIRO et al. (2007), trabalhando com a eficácia de extratos de nim no controle do oídio do feijoeiro, constataram que o óleo e o extrato de sementes controlaram a doença diferentemente do extrato de folhas, que não foi eficiente no controle.

BAPTISTA et al. (2007), ao avaliarem produtos alternativos no manejo da pinta preta do tomateiro, verificaram que a pulverização com extrato de nim a 2% uma vez por semana, reduziu a severidade da doença. Já BAPTISTA et al. (2009), investigando a ação de óleos essenciais no controle de doenças do tomateiro em sistema orgânico, concluíram que o óleo de nim foi eficiente no controle de doenças foliares apenas no início do ciclo da cultura, não sendo suficiente para o controle até o final do ciclo, em condições altamente favoráveis às doenças e elevada presença do inóculo no campo.

CARVALHO (2010), estudando o efeito fungitóxico do extrato de nim sobre *C. gloeosporioides* do cajueiro, constatou inibição parcial da esporulação nas concentrações de 5% e 10%. Observou também com o aumento da concentração, diminuição no diâmetro de colônia, decréscimo no percentual de germinação e deformações no tubo germinativo dos esporos.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, T. F., CAMARGO, M., PANIZZI, R. C. Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v.35, p.196-201, 2009.
- AZEVEDO, J. N.; FRANCO, L. J. D.; ARAUJO, R. O. C. **Composição química de sete variedades de feijão-fava**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2003. 4p. (Comunicado Técnico, 152).
- BAPTISTA, M. J.; RESENDE, F. V.; OLIVEIRA, A. R. Avaliação de produtos alternativos no manejo da pinta preta do tomateiro. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v. 2, p.694-697, 2007.
- BAPTISTA, M. J.; RESENDE, F. V.; OLIVEIRA, A. R. Uso de óleos vegetais de alho e nim no controle de doenças foliares em tomateiro sob sistema orgânico de produção. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v. 4, p.365-368, 2009.
- BEYRA, A.; ARTILES, G. R. Revisión taxonômica de los géneros *Phaseolus* y *Vigna* (Leguminosae – Papilionoideae) em Cuba. **Anales Del Jardín Botánico de Madrid**, v. 61, p.135-154, 2004.
- BELMINO, C. S. **Resistência do feijão-caupi a *Colletotrichum truncatum***. 2004. 64f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Curso de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa.
- BONDE, M.R.; NESTER, S.E.; BERNER, D.K.; FREDERICK, R.D.; MOORE, W.F.; LITTLE, S. Comparative susceptibilities of legume species to infection by *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Disease**, v. 92, p.30-36, 2008.
- BRAMMER, S.P. et al. **Mapeamento de genes de resistência à ferrugem da folha em cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L. Thell)**. Acesso em: 12 jan. 2011. Online. Disponível em: http://www.redbio.org/portal/encuentros/enc_2001/simposios/S-10/S.P.Brammer.pdf.

CAMARGO, L. E. A.; BERGAMIN FILHO, A. Controle genético. In.: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. 1v.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 29, p.262-265, 2003.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 33, p.34-39, 2007.

CARVALHO, E. M. S. **Antracnose em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.): Caracterização do agente causal e reação de genótipos a *Colletotrichum truncatum***. 2009. 53f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual Paulista.

CARVALHO, P. R. S. **Extratos vegetais: potencial elicitador de fitoalexinas e atividade antifúngica em antracnose do cajueiro**. 2010. 64f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual Paulista.

COSTA, I. F. D.; BALARDIN, R. S.; MEDEIROS, L. A. M.; LENZ, G. L.; GULART, C. A.; ZEMOLIN, C. R.; SILVA, T. M. B. Reação de germoplasma comercial de soja a *Colletotrichum truncatum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, p.47-50, 2009.

COSTA, I.F.D.; BALARDIN, R.S.; MEDEIROS, L.A; BAYER, T.M. Resistência de seis cultivares de soja ao *Colletotrichum truncatum* (Schwein) em dois estádios fenológicos. **Ciência Rural**, v. 36, p.1684-1688, 2006.

COSTA, J. G. C.; RAVA, C. A.; FONSECA, J. R.; SALGADO, A. L. Fontes de resistência à antracnose em coletas de feijão comum. **Revista Ceres**, v. 50, p.273-277, 2003.

CRONQUIST, A. **Devolution and classification of flowering plants**. New York : New York Botanical Garden, 1988. 555p.

DAVIDSON, C. R.; CARROLL, R. B.; EVANS, T. A.; MULROONEY, R. P.; KIM, S. H. First report of *Phytophthora capsici* infecting lima bean (*Phaseolus lunatus*) in the midatlantic region. **Plant Disease**, v. 86, n.9, p.1049, 2002.

DAVIDSON, C.R.; EVANS, T.A.; MULROONEY, R.P.; GREGORY, N.F.; CARROLL, R.B.; O'NEILL, N.R. Lima bean downy mildew epiphytotics caused by new physiological races of *Phytophthora phaseoli*. **Plant Disease**, v. 92, n.5, p. 670-674, 2008.

DEBOUCH, D. G. Systematic and morphology. In: van Schoonhoven, A.; Voysest, O. **Common beans: research for crop improvement**. Wallingford : UK and CIAT, California. 1991, p. 55-118.

DUARTE, H. S. S. **Resistência de cultivares de batata a requeima**. 2009. 49f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Curso de pós-graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa.

GUIMARÃES, W. N. R. **Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L., Fabaceae) da coleção de germoplasma do departamento de agronomia da UFRPE**. 2005. 74f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

GUIRADO, N.; AMBROSANO, E. J.; MENDES, P. C. D.; ROSSI, F.; ARÉVALO, R. A. Controle de doenças em sistemas agroecológico. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, p.153-156, 2004.

IBGE. Banco de dados agregados: pesquisa: produção agrícola municipal, 2009. Acessado em: 5 jan. 2011. Online. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=pb&tema=lavouratemporaria2009>.

KAMIKOGA, A. T. M. **Método da folha destacada para avaliar resistência da soja ao oídio**. 2001. 86f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Pará.

LEMOS, L. B.; OLIVEIRA, R. S.; PALOMINO, E. C.; SILVA, T. R. B. **Características agrônomicas e tecnológicas de genótipos de feijão do grupo comercial Carioca**. Pesquisa agropecuária Brasileira, v. 39, p.319-326, 2004.

LEMOS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVERO, A. A.; CLARK, A.M.; McCHESNEY, J. D. Antimicrobial activity of essential oils of brasilian plants. **Phytoterapy Research**, Chichester, v. 4, p.82-84, 1990.

- MEDEIROS, J. G. S. **Reação de genótipos de pessegueiro a bacteriose causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *Pruni***. 2009. 79f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- MEDEIROS, L. A. M.; BALARDIN, R. S.; COSTA, I. F. D.; GULART, C. A.; LENZ, G. Reação de germoplasma crioulo de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Colletotrichum lindemuthianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p.273-280, 2008.
- MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R.T.A.; MAGNO JÚNIOR, R. G.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 31, p. 83-90, 2007.
- MELGAREJO, T. A.; LEHTONEN, M. T.; FRIBOURG, C. E.; RÄNNÄLI, M.; VALKONEN, J. P. T. Strains of BCMV and BCMNV characterized from lima bean plants affected by deforming mosaic disease in Peru. **Archives of Virology**, v. 152, p.1941-1949, 2007.
- NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Reação de cultivares de feijão-caupi a mela (*Rhizoctonia solani*) em Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p.424-428, 2007.
- NEVES, B. P.; OLIVEIRA, I. P.; NOGUEIRA, J. C. M. **Cultivo e utilização do nim indiano**. Santo Antônio de Goiás : EMBRAPA, 2003. 12p. (Circular Técnica 62).
- OLIVEIRA, A. P.; ALVES, E. U.; ALVES, A. U.; DORNELAS, C. S. M.; SILVA, J. A.; PÔRTO, M. L.; ALVES, A. V. Produção de feijão-fava em função do uso de doses de fósforo em um neossolo regolítico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, p.543-546, 2004.
- PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In.: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, Cap. 22, p.417-452, 1995.
- PAULA JÚNIOR, T. J.; SILVA, M. B.; VIEIRA, R. F. Doenças causadas por fungos em hortaliças leguminosas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, p.63-71, 1995.
- RAGAGNIN, V. A.; SOUZA, T. L. P. O.; COSTA, M. R.; SANGLARD, D. A.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Inoculação de folhas destacadas de feijoeiro

comum para avaliação da reação ao fungo *Colletotrichum lindemuthianum*. CONAFE: Embrapa, p.201-204, 2005.

RIOS, G. P., ANDRADE, E. M.; COSTA, J. L. S. Avaliação da resistência de cultivares e linhagens do feijoeiro comum a diferentes populações de *Uromyces appendiculatus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p.128-133, 2001.

SALA, G. M.; ITO, M. F.; CARBONELL, S. A. M. Reação de genótipos de feijoeiro comum a quatro raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Summa Phytopathologica**. v. 32, p.286-287, 2006.

SALLES, L. A.; RECH, N. L. Efeito de extrato de nim (*Azadiractha indica*) e cinamo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (WIED.) (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 5, p.225-227, 1999.

SARTORATO, A. Novas fontes de resistência do feijoeiro comum à mancha angular. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p.192-194, 2006.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, p.129-137, 2000.

SENGOOBA, T. N.; SPENCE, N. J.; WALKEY, D. G. A.; ALLEN, D. J.; FEMI LANA, A. The occurrence of bean common mosaic necrosis vírus in wild and forage legume in Uganda. **Plant Pathology**, v. 46, p.95-103, 1997.

SILVA, J. A.; OLIVEIRA, M. G. O.; SOUZA, L. T.; MICHEREFF, S. J.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A. Reação de genótipos de fava (*Phaseolus lunatus* L.) à podridão do colo causada por *Sclerotium rolfsii*, Recife, PE, 2010b. In.: **X JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX 2010** – UFRPE : Recife, PE.

SILVA, K. J. D.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; SOUSA, F. M.; ROCHA, M. M. Recursos genéticos. In.: LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, A. S. F. **A cultura do feijão-fava no meio-norte do Brasil**. Teresina : EDUFPI, 2010a. Cap.1, p.09-44.

SILVA, S. M. S.; MAIA, J. M.; ARAÚJO, Z. B.; FREIRE FILHO, F. R. **Composição química de 45 genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp)**. Teresina : Embrapa Meio-Norte, 2002. 2p. (Comunicado Técnico, 149).

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, p. 19-21, 1999.

VIEIRA, R.F.; VIEIRA, C.; ANDRADE, G.A. Comparações agronômicas de feijões dos gêneros *Vigna* e *Phaseolus* com o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, p.841-850, 1992.

YAGUIU, A.; MACHADO-NETO, N. B.; CARDOSO, V. J. M. Grouping of Brazilian accesses of lima beans (*Phaseolus lunatus* L.) according to SDS-PAGE patterns and morphological characters. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 25, p. 7-12, 2003.

ZIMMERMANN, M. J. O.; TEIXEIRA, M. G. Origem e evolução. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. (Coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba : Potafos, 1996, p.57-70.

4. CAPÍTULO I

Reação de subamostras de feijão-fava a antracnose

The Lima bean subsample reaction to anthracnose

Gerusa Rodrigues dos Santos Cavalcante¹, Eulália Maria Sousa Carvalho²,
Regina Lucia Ferreira Gomes³

RESUMO

O feijão-fava, segunda espécie mais cultivada do gênero *Phaseolus*, apesar de demonstrar grande adaptação às condições edafoclimáticas na região Nordeste do Brasil, apresenta baixo rendimento devido, entre outros fatores, à ocorrência de doenças como a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*. Nesse sentido, objetivou-se avaliar a reação de 30 subamostras de feijão-fava à antracnose. Para tanto, foram utilizadas folhas destacadas inoculadas com *C. truncatum*. A severidade da doença foi estimada por meio de escala de notas e as subamostras agrupadas em cinco classes de acordo com a resistência. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Em folhas destacadas, a maioria das subamostras de feijão-fava apresentou baixo nível de resistência à antracnose. As subamostras UFPI 251 e UFPI 673 comportaram-se como altamente resistentes aos cinco e sete dias após a inoculação sendo, portanto promissoras para utilização em programas de melhoramento da cultura.

Palavras-chave: *Phaseolus lunatus*, *Colletotrichum*, fitopatógeno, divergência genética.

¹ Mestrado em Agronomia, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal do Piauí (UFPI). Rua Dirce de Oliveira, 3597 - Campus da Socopo, 64.049-550, Teresina, PI, Brasil. E-mail: gerusarsc@hotmail.com.

² Departamento de Fitotecnia, CCA, UFPI. E-mail: rlfgomes@ufpi.edu.br.

³ Departamento de Fitotecnia, CCA, UFPI. E-mail: eulaliamsc@yahoo.com.br. Autor para correspondência.

ABSTRACT

The Lima bean, the second most cultivated specie of the genus *Phaseolus*, spite of demonstrating a great adaptation to edaphoclimatic conditions in the Brazilian northeast region, it shows a low yield due to the occurrence of diseases such as anthracnose that is caused by the fungus *Colletotrichum truncatum*. This work aimed to evaluate the reaction of the 30 Lima bean subsample to anthracnose. For both were used detached leaves and after this inoculated in *C. truncatum*. The disease severity was estimated by a grade scale and the subsamples were put in groups of five classes according to the resistance. For the experimental design was used the completely randomized (CRD) with four replicates. The detached leaves from Lima bean subsamples showed a low resistance level mostly. The behavior of UFPI 251 and UFPI 673 subsamples showed a high resistance in five and seven days after inoculation and an excellent performance for the using in crop improvement programs.

Key words: *Phaseolus lunatus*, *Colletotrichum*, phytopathogen, genetic divergence.

4.1. INTRODUÇÃO

A fava (*Phaseolus lunatus* L.), também conhecida como feijão-lima ou feijão-fava, é uma planta anual da família das leguminosas, trepadeira e cultivada por apresentar grãos comestíveis (AZEVEDO et al., 2003). A espécie foi domesticada na América do Sul e Central, e é considerada subtropical (SAUER, 1993; ZIMMERMANN; TEIXEIRA, 1996).

O feijão-fava tem relativa importância econômica e social, por causa da sua rusticidade, com colheita prolongada e realizada no período seco (AZEVEDO et al., 2003). Apresenta ampla adaptabilidade, embora se comporte melhor em climas quentes e úmidos (GUIMARÃES, 2005). É a segunda leguminosa de maior importância do gênero *Phaseolus* e, devido ao conteúdo protéico, é usada como fonte alternativa de alimento, na forma de grãos maduros ou verdes, como opção de renda pela população, principalmente por pequenos produtores (SANTOS et al., 2009).

Segundo SANTOS et al. (2002), a cultura feijão-fava apresenta baixa produtividade, que pode ser atribuída ao fato de parte da produção ser oriunda de pequenos produtores que o plantam em consórcios com outras culturas, sem a adoção de tecnologia que vise o aumento da produtividade. A ocorrência de doenças também tem sido apontada como um dos fatores de redução da produtividade e da qualidade da fava produzida. Entre essas doenças, a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*, tem se destacado entre as doenças fúngicas frequentemente encontradas em plantios de feijão-fava no Brasil, especialmente na região Nordeste (PAULA JUNIOR et al., 1995).

O uso de cultivares resistentes tem sido um dos métodos de controle mais eficientes, pois além de diminuir o custo de produção reduz os impactos negativos ao ambiente pela aplicação de agrotóxicos. Segundo CAMARGO; BERGAMIN FILHO (1995), a primeira etapa básica em qualquer programa de obtenção e utilização de cultivares resistentes é identificar fontes de resistência, ou seja, identificar germoplasma que possua os genes de resistência procurados. Desta forma, a avaliação da reação do germoplasma de feijão-fava à antracnose é importante para auxiliar no desenvolvimento de cultivares com maior resistência ou tolerância a essa doença.

A técnica da folha destacada tem sido usada para avaliar resistência a doenças de várias culturas como o feijão (RIOS et al., 2001), a soja (KAMIKOGA, 2001) e o feijão-fava (CARVALHO, 2009). O seu emprego, segundo MEDEIROS (2009), apresenta como vantagens a economia de espaço, de material do hospedeiro, de inóculo dos patógenos, facilidade e exatidão das observações, menor risco de contaminações, uniformidade da unidade experimental, facilidade de controle e manipulação dos ambientes. Em feijão-fava, CARVALHO (2009) constatou correlação positiva significativa na reação de genótipos a *C. truncatum* quando avaliados em planta e folhas destacadas, comprovando a viabilidade do emprego dessa técnica em estudos relacionados a doenças. Nesse sentido, objetivou-se avaliar a resistência de subamostras de feijão-fava a *C. truncatum* por meio da técnica da folha destacada.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período de janeiro a abril de 2010, no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), em Teresina – Piauí, localizada a 05°02'45"S e 42°46'57"W.

4.2.1. Origem do isolado de *C. truncatum*

O isolado de *C. truncatum* foi obtido de folhas de feijão-fava com sintomas característicos de antracnose, coletadas no campo experimental do CCA.

As culturas puras foram obtidas empregando-se o método indireto, no qual fragmentos do tecido foliar doente, após desinfecção superficial em álcool 70% durante um minuto e hipoclorito de sódio a 2% por dois minutos, foram transferidos para placas de Petri contendo meio ágar-água a 2% e mantidas a $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. À medida que o micélio tornou-se perceptível efetuou-se a transferência para o meio feijão-dextrose-ágar (FDA), constituído de 200 g de feijão-comum, grão tipo carioca, cozido em forno micro-ondas por 20 minutos, em potência máxima, acrescido de 20 g de dextrose e 16 g de ágar, para posterior caracterização sendo denominado isolado CT4.

4.2.2. Avaliação da resistência de subamostras de feijão-fava a antracnose

Foram avaliadas quanto a resistência à antracnose, empregando-se folha destacada, 30 subamostras de feijão-fava oriundas do Banco Ativo de Germoplasma (BAG de Feijão-fava) da UFPI, selecionadas por serem raças locais e/ou utilizadas por produtores da região (Tabela 1).

Para a obtenção das folhas, sementes de cada subamostra foram plantadas em vasos de plástico contendo 4,0kg de terra vegetal adubada, conforme análise de solo, deixando-se uma planta/vaso após desbaste. Aos 40 dias após a semeadura, foram previamente selecionadas, de cada subamostra, oito folhas trifolioladas, completamente expandidas e com aproximadamente a mesma idade, e destacadas um dia antes da inoculação. Em seguida, as folhas foram acondicionadas em placa de Petri (150 x 20 mm) esterilizadas contendo uma fina camada de algodão e um disco de papel de filtro umedecido com 20 mL de água, segundo metodologia descrita por MENDES ; BERGAMIN FILHO (1986) (Figura 1A).

Tabela 1. Relação das subamostras de feijão-fava avaliadas em Teresina-PI, 2010.

Subamostra	Nome popular	Local de coleta	Hábito de crescimento	Cor da semente
Progênie 1*	NI	NI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
Progênie 2*	NI	NI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 655	Boca de moça	Olho d'água/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 220	BGH883/92	Ipameri/GO	Indeterminado	Marrom
UFPI 121	NI	Bom Jesus/PI	Indeterminado	Amarela
UFPI 251	BGH-780/92	Cáceres/MG	Indeterminado	Cinza claro
UFPI 656	Boca de moça	Barro Duro/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 667	Boca de moça	Palmeirais/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 664	Boca de moça	Riachinho/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 276	Pintada roxa	Cajazeiras/PB	Indeterminado	Roxa pintada
UFPI 222	BGH 882/92	Ipameri/GO	Indeterminado	Marrom
UFPI 465	NI	Mirador/MA	Indeterminado	Creme
UFPI 679	Boca de moça	Picos/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 658	Boca de moça	Palmeirais/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 659	Boca de moça	Barro Duro/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 032	NI	Várzea Grande/PI	Indeterminado	Marrom
UFPI 494	Fígado de galinha	Açailândia/MA	Indeterminado	Marrom claro
UFPI 470	NI	Teresina/PI	Indeterminado	Creme
UFPI 681	Boca de moça	Tanque/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 676	Boca de moça	Palmeirais/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 652	Boca de moça	Palmeirais/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 500	NI	Guaramiranga/CE	Indeterminado	Creme com hilo bege
UFPI 274	Fava Branca	Cajazeiras/PB	Indeterminado	Branca
UFPI 651	Boca de moça	Hugo Napoleão/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 673	Boca de moça	Barra D'alcantara/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 669	Boca de moça	Várzea Grande/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 653	Boca de moça	Barro Duro/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 670	Boca de moça	Várzea Grande/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 668	Boca de moça	Palmeirais/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 689	Boca de moça	Elesbão Veloso/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado

*Progênies 1 e 2 – descendências de plantas resistentes.

NI = Não identificado.

O inoculo foi preparado adicionando-se 20 mL de água destilada esterilizada à placa do fungo cultivado em meio de cultura FDA a $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, durante 15 dias, removendo-se as estruturas do patógeno com uma alça de platina em formato “o”. Em seguida, a suspensão foi filtrada em filtro de café, para separação dos esporos, e a concentração ajustada em 10^5 esporos/mL, com o auxílio da câmara de Neubauer. A inoculação foi feita em folhas retiradas de plantas com 40 dias após a semeadura, pulverizando-se a face superior e inferior da folha com aproximadamente 1,5 mL da suspensão de conídios (quatro folhas/subamostra) ou água esterilizada para as testemunhas (quatro folhas/subamostra). Após a inoculação, as placas foram fechadas com filme plástico transparente para manter uma umidade elevada (Figura 1B). Após 48 horas, em incubadora com temperatura ajustada para $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, o filme plástico foi retirado e as folhas mantidas nessas condições até a avaliação (Figura 1C).

A severidade foi avaliada por três avaliadores, aos cinco e sete dias após a inoculação (DAI), utilizando-se uma escala de notas de 0 a 5, segundo CARVALHO (2009), em que: 0 = ausência de sintomas; 1 = traços a 10% da área foliar infectada; 2 = 11 a 25% da área foliar infectada; 3 = 26 a 50% da área foliar infectada, sem queda de folíolo; 4 = 51 a 75% da área foliar infectada, sem ou com queda de um dos folíolos; 5 = 76 a 100% da área foliar infectada, sem ou com queda de dois ou três folíolos.

Após a avaliação da severidade, obteve-se uma média geral das notas atribuídas pelos avaliadores para cada subamostra. Com base nessas médias, as subamostras foram agrupadas segundo critérios estabelecidos por BELMINO (2004), em cinco classes: Imune (IM) - 0; altamente resistente (AR) - 0,1 a 1,4; moderadamente resistente (MR) - 1,5 a 2,4; moderadamente suscetível (MS) - 2,5 a 3,0; e altamente suscetível (AS) - acima de 3,0.

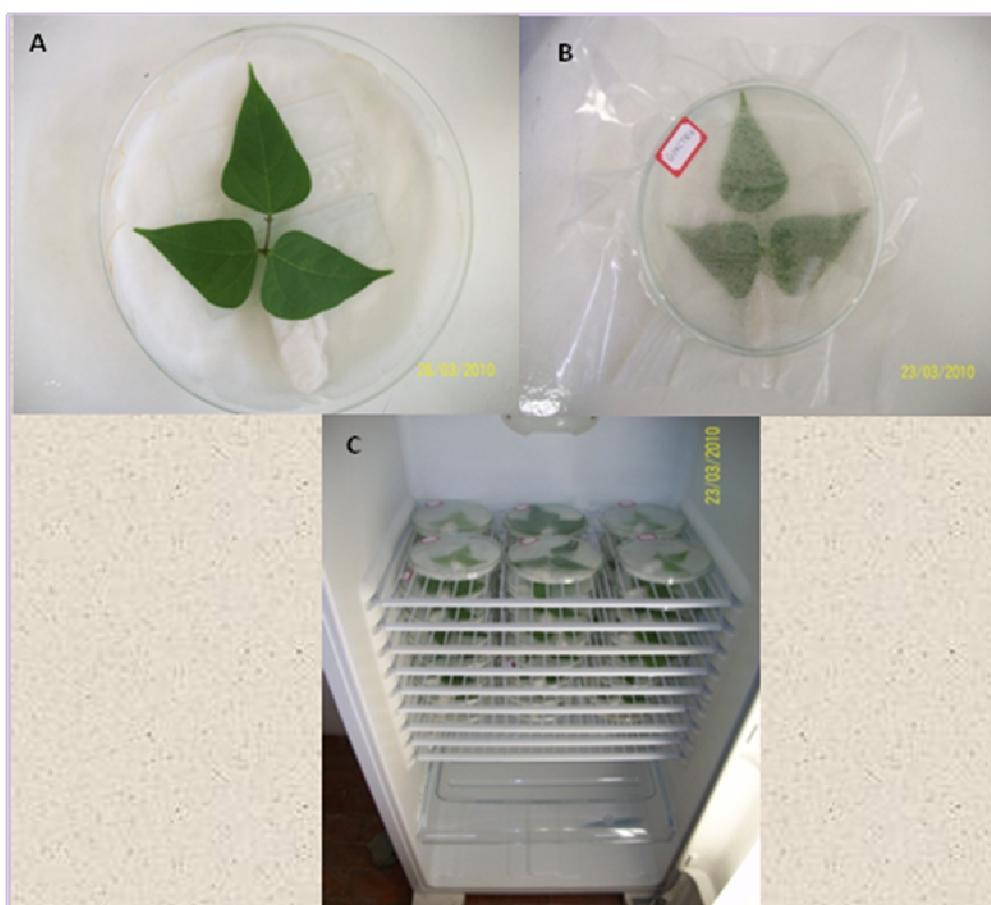


Figura 1. Folha de feijão-fava destacada não inoculada (A), inoculada (B) e acondicionada na incubadora (C).

Fonte: Gersa Rodrigues (2010).

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Cada repetição foi constituída por uma folha trifoliolada. Os dados da severidade foram submetidos à análise de variância, usando o software SAS (1993), e as médias transformadas através da $\sqrt{x+1}$ foram agrupadas pelo método proposto por Scott-knott (1974) ($P < 0,05\%$) e a comparação entre subamostras e testemunhas foi realizada pelo teste de Dunnett ($P < 0,05\%$) empregando-se o programa Genes (CRUZ, 2006).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Avaliação da resistência das subamostras de feijão-fava à antracnose

Observou-se que as reações das subamostras variaram de altamente resistente (AR) a altamente suscetível (AS) e que houve um progresso na severidade da doença quando comparadas as resistências das subamostras aos cinco e sete dias após a inoculação (DAI) (Tabela 2).

Com relação à comparação entre as médias de severidade e reação das subamostras de feijão-fava a *Colletotrichum truncatum* (Tabela 2), aos cinco e sete dias após a inoculação, verificou-se a formação de dois grupos (A e B). O grupo A, aos cinco DAI, foi constituído por dezesseis subamostras com severidade variando de 2,25 a 4,25, classificadas como AS (oito subamostras), MS (cinco subamostras) e MR (três subamostras). Por outro lado, o grupo B foi formado por quatorze subamostras com severidade variando de 0,25 a 2,00, sendo quatro MR e dez AR. Aos sete DAI, as subamostras foram separadas também em dois grupos, o grupo A formado por dezessete subamostras apresentando severidade variando de 3,25 a 5,00 (dezesseis AS e uma MS) e o grupo B constituído por treze subamostras, com severidade variando de 0,75 a 2,75 (cinco MS, seis MR e duas AR). Verificou-se que a maioria das subamostras altamente suscetíveis foram separadas das demais classes, compondo o grupo A. Estes resultados estão de acordo com BELMINO (2004), que apontou a severidade como o componente epidemiológico que melhor discriminou os genótipos de feijão-caupi quanto à reação de resistência à *Colletotrichum truncatum*.

Comparando-se as avaliações realizadas aos cinco e sete DAI, observou-se que vinte subamostras mudaram de classe. Dentre estas, seis passaram de AR para

MR; duas de AR para MS; quatro de MR para MS; três de MR para AS e cinco de MS para AS. Por outro lado, dez subamostras mantiveram-se na mesma classe, sendo oito AS (UFPI - 276, UFPI - 465, UFPI - 658, UFPI - 659, UFPI - 032, UFPI - 274, UFPI - 651 e UFPI - 669) e duas AR (UFPI - 251 e UFPI - 673). O tempo para o aparecimento de sintomas está relacionado com o comportamento hemibiotrófico do gênero *Colletotrichum* (MÜNCH et al., 2008), resistência do hospedeiro e virulência do isolado (CHONGO et al., 2002). De acordo com CHONGO et al. (2002), em cultivar suscetível de lentilhas, o tempo de aparecimento das lesões variou de 72 a 144 horas e de até 14 dias após a inoculação, em cultivar resistente. Desta forma, a mudança de comportamento das subamostras de feijão-fava constatada pode estar relacionada a esses fatores.

Estudos de avaliação de genótipos de feijão-fava quanto à resistência à antracnose são escassos, diferentemente do que ocorre em outras culturas. Nessa espécie, encontrou-se apenas um registro, CARVALHO (2009), que classificou os três genótipos avaliados como suscetíveis ao fungo, embora cite que outras subamostras podem apresentar resistência. Desta forma, os resultados encontrados corroboram com o autor, visto que dentre as 30 subamostras avaliadas, UFPI-673 e UFPI-251, se comportaram como altamente resistentes, aos cinco e sete DAI. Para outras culturas existem vários relatos de materiais resistentes ao fungo (BUCHWALDT et al., 2004; BELMINO, 2004; PEREIRA, 2005). COSTA et al. (2009) avaliando a reação de 48 cultivares comerciais de soja a *C. truncatum*, também encontraram diferentes classes, sendo apenas três cultivares suscetíveis, e as demais consideradas resistentes (17 cultivares) ou intermediárias (28 cultivares). BELMINO (2004), trabalhando com resistência de genótipos de feijão-caupi a *C. truncatum* em Teresina e José de Freitas-PI, também constatou variações na resistência dos genótipos de imunes à altamente suscetíveis. NECHET et al. (2004), em estudos de avaliação de genótipos de soja em relação à antracnose e mela nas condições de Roraima, verificaram que os genótipos Tracajá, Pati e UFV-9 foram os que apresentaram a menor incidência de vagens com antracnose, enquanto os genótipos IAC-8 e IAC 8-2 apresentaram 29% e 26% de vagens com sintomas, respectivamente.

Tabela 2. Médias¹ de severidade (SEV) e reação (R) das subamostras de feijão-fava a *Colletotrichum truncatum*, aos cinco e sete dias após a inoculação (DAI). Teresina-PI, 2010.

Subamostra	Cinco DAI		Sete DAI	
	SEV	R ²	SEV	R ²
Progênie 1 ³	0,75 B	AR	2,00 B	MR
Progênie 2 ³	1,00 B	AR	2,50 B	MS
UFPI 655	0,75 B	AR	1,75 B	MR
UFPI 220	0,75 B	AR	2,25 B	MR
UFPI 121	2,25 A	MR	2,75 B	MS
UFPI 251	0,25 B	AR	1,25 B	AR
UFPI 656	1,25 B	AR	2,50 B	MS
UFPI 667	2,50 A	MS	4,00 A	AS
UFPI 664	2,75 A	MS	4,50 A	AS
UFPI 276	3,50 A	AS	4,00 A	AS
UFPI 222	0,75 B	AR	1,75 B	MR
UFPI 465	4,00 A	AS	5,00 A	AS
UFPI 679	0,75 B	AR	1,75 B	MR
UFPI 658	3,75 A	AS	4,25 A	AS
UFPI 659	3,75 A	AS	4,00 A	AS
UFPI 032	3,75 A	AS	4,00 A	AS
UFPI 494	2,75 A	MS	4,00 A	AS
UFPI 470	1,75 B	MR	2,50 B	MS
UFPI 681	3,00 A	MS	3,50 A	AS
UFPI 676	2,00 B	MR	3,25 A	AS
UFPI 652	1,75 B	MR	3,00 A	MS
UFPI 500	2,25 A	MR	3,25 A	AS
UFPI 274	4,25 A	AS	5,00 A	AS
UFPI 651	4,25 A	AS	4,75 A	AS
UFPI 673	0,75 B	AR	0,75 B	AR
UFPI 669	3,75 A	AS	5,00 A	AS
UFPI 653	2,25 A	MR	3,75 A	AS
UFPI 670	1,75 B	MR	2,50 B	MS
UFPI 668	0,25 B	AR	2,00 B	MR
UFPI 689	3,00 A	MS	4,25 A	AS
CV (%)	24.7		22.6	

¹Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott (P<0,05%). Dados originais.

²IM – Imune; AR – Altamente resistente; MR – Moderadamente resistente; MS – Moderadamente suscetível; AS – Altamente suscetível.

³Progênies 1 e 2 – descendências de plantas resistentes.

As duas subamostras AR (UFPI 673 e UFPI 251), apesar de serem oriundas dos estados do Piauí e Minas Gerais, respectivamente (Tabela 1) foram agrupadas pelo método de Scott-knott em mesmo grupo (B) aos cinco e sete dias. Esse fato pode indicar uma semelhança genética entre elas. Contudo, BELMINO (2004)

observou muita variação entre ensaios quanto à resistência de genótipos de feijão-caupi à *C. truncatum*. Segundo esse autor, genótipos considerados resistentes para determinado local e condições foram suscetíveis em outro.

A comparação entre as subamostras de feijão-fava com suas respectivas testemunhas (Tabela 3), mostra que aos cinco DAI, 14 subamostras classificadas como AR, MR e MS na avaliação da severidade (Tabela 2) foram iguais às testemunhas, enquanto, aos sete DAI, somente sete subamostras (uma AR, duas MR, três MS e uma AS) mantiveram comportamento. As testemunhas apresentaram sintomas com severidade variando de 0,00 a 1,00, aos cinco e sete DAI.

As subamostras que não diferiram das testemunhas (Tabela 3) e não se comportaram como AR quando avaliadas em folhas destacadas podem ser AR no campo. BUCHWALDT et al. (2004), em estudos de identificação de germoplasma de lentilha resistente a *C. truncatum*, verificaram que os genótipos resistentes à antracnose no campo comportaram-se como suscetíveis quando avaliados em condições controladas. Resultado semelhante também foi encontrado por KAMIKOGA (2001), em estudo sobre resistência de soja ao oídio, no qual, as cultivares que apresentaram pouco sintoma da doença em folhas destacadas e em casa de vegetação foram resistentes no campo, desenvolvendo pouco ou nenhum sintoma da doença, mesmo quando próximas a níveis elevados de inóculo.

Algumas subamostras que tiveram média de notas igual a 0,75, aos cinco DAI, não foram iguais à testemunha, já outras subamostras com nota igual ou superior a 0,75, aos cinco DAI e aos sete DAI, foram iguais às suas testemunhas. Este fato ocorreu devido provavelmente à variação na severidade verificada dentro das repetições de cada subamostra em função de vários fatores. Segundo CHONGO; BERNIER (2000), o desenvolvimento da antracnose causado por *C. truncatum* em lentilha depende do genótipo do hospedeiro, concentração de inóculo, duração do período de molhamento, fase de crescimento e temperatura. A diferença na idade das folhas destacadas também pode ter contribuído para esses resultados, tendo em vista que todas as subamostras avaliadas são de crescimento indeterminado (Tabela 1) dificultando a escolha de folhas de mesma idade. Segundo CARVALHO (2009), a idade das folhas selecionadas para inoculação pode ter contribuído para as divergências de comportamento dos genótipos de feijão-fava quando avaliados em folhas destacadas e plantas. MEDEIROS (2004) cita também que a severidade dos sintomas depende da idade da planta. A resistência, segundo

esse autor, aumenta com o avançar do ciclo de desenvolvimento da planta. BELMINO (2004), avaliando a reação de genótipos de feijão-caupi a *C. truncatum*, observou que as plantas inoculadas com uma e duas semanas após o plantio apresentaram menores valores de severidade, enquanto, em planta com três semanas de idade a severidade foi maior.

Tabela 3. Médias¹ das subamostras e das respectivas testemunhas, aos cinco e sete dias após a inoculação (DAI). Teresina-PI, 2010.

Subamostras	Cinco DAI		Sete DAI	
	Médias das subamostras	Médias das testemunhas	Médias das subamostras	Médias das testemunhas
Progênie 1 ²	0,75 A	0,00 B	2,00 A	0,00 B
Progênie 2 ²	1,00 A	0,00 B	2,50 A	0,00 B
UFPI 655	0,75 A	0,00 A	1,75 A	0,00 B
UFPI 220	0,75 A	0,00 B	2,25 A	0,00 A
UFPI 121	2,25 A	0,50 A	2,75 A	0,75 A
UFPI 251	0,25 A	0,00 A	1,25 A	0,00 B
UFPI 656	1,25 A	0,25 A	2,50 A	0,25 B
UFPI 667	2,50 A	0,00 B	4,00 A	0,00 B
UFPI 664	2,75 A	0,25 B	4,50 A	0,25 B
UFPI 276	3,50 A	0,25 B	4,00 A	0,25 B
UFPI 222	0,75 A	0,00 B	1,75 A	0,00 B
UFPI 465	4,00 A	0,00 B	5,00 A	0,00 B
UFPI 679	0,75 A	0,00 B	1,75 A	0,00 B
UFPI 658	3,75 A	0,25 B	4,25 A	0,25 B
UFPI 659	3,75 A	0,50 B	4,00 A	0,75 B
UFPI 032	3,75 A	0,00 B	4,00 A	0,00 B
UFPI 494	2,75 A	0,00 A	4,00 A	0,25 B
UFPI 470	1,75 A	0,25 A	2,50 A	0,25 B
UFPI 681	3,00 A	0,75 A	3,50 A	0,75 B
UFPI 676	2,00 A	0,00 A	3,25 A	0,00 B
UFPI 652	1,75 A	0,25 A	3,00 A	0,75 A
UFPI 500	2,25 A	0,50 A	3,25 A	1,00 A
UFPI 274	4,25 A	0,00 B	5,00 A	0,25 B
UFPI 651	4,25 A	0,00 B	4,75 A	0,00 B
UFPI 673	0,75 A	0,25 A	0,75 A	0,25 A
UFPI 669	3,75 A	0,25 B	5,00 A	0,25 B
UFPI 653	2,25 A	0,00 A	3,75 A	0,00 B
UFPI 670	1,75 A	0,00 A	2,50 A	0,00 A
UFPI 668	0,25 A	0,00 A	2,00 A	0,00 A
UFPI 689	3,00 A	0,00 B	4,25 A	0,00 B

¹Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (P<0,05%). Dados originais.

²Progênies 1 e 2 – descendências de plantas resistentes.

As condições ambientais influenciam a reações do hospedeiro aos patógenos, no entanto, CARVALHO (2009), avaliando a reação de subamostras de feijão-fava a *C. truncatum* em período chuvoso e seco, constatou que os fatores climáticos influenciaram no comportamento dos genótipos ao fungo sem, contudo, revelar diferença entre as duas épocas quando avaliados em folha destacada.

O uso de genótipos de feijão-fava com resistência a antracnose poderá ser útil na redução do uso de defensivos e contribuir para a elevação no rendimento da cultura, com menores custos de produção. As subamostras UFPI 673 e UFPI 251, altamente resistentes aos cinco e sete DAI, podem, portanto, serem utilizadas em futuros programas de melhoramento visando resistência à antracnose.

4.4. CONCLUSÕES

Em folhas destacadas, a maioria das subamostras de feijão-fava avaliada apresentou baixo nível de resistência à antracnose;

As subamostras UFPI 251 e UFPI 673 são altamente resistentes aos cinco e sete dias após a inoculação quando avaliadas em condições de folha destacada, sendo, portanto promissoras para utilização em programas de melhoramento da cultura.

4.5. REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, J. N.; FRANCO, L. J. D.; ARAUJO, R. O. C. **Composição química de sete variedades de feijão-fava**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2003. 4p. (Comunicado Técnico, 152).
- BELMINO, C. S. **Resistência do feijão-caupi a *Colletotrichum truncatum***. 2004. 64f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Curso de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa.
- BUCHWALDT, L.; ANDERSON, K. L.; MORRALL, R. A. A.; GOSSEN, B. D.; BERNIER, C. C. Identification of lentil germ plasm resistant to *Colletotrichum truncatum* and characterization of two pathogen races. **Phytopathology**, v.94, p. 236-243, 2004.

CAMARGO, L. E. A.; BERGAMIN FILHO, A. Controle genético. In.: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. 1v.

CARVALHO, E. M. S. **Antracnose em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.): Caracterização do agente causal e reação de genótipos a *Colletotrichum truncatum***. 2009. 53f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual Paulista.

CHONGO, G.; BERNIER, C. C. Effects of host, inoculum concentration, wetness duration, growth stage, and temperature on anthracnose of lentil. **Plant Disease**, v84, p.544-548, 2000.

CHONGO, G.; GOSEN, B. D.; BERNIER, C. C.; Infection by *Colletotrichum truncatum* in resistant and susceptible lentil genotypes. **Canadian Journal Plant Pathology**, v.24, p.81-85, 2002.

COSTA, I. F. D.; BALARDIN, R. S.; MEDEIROS, L. A. M.; LENZ, G. L.; GULART, C. A.; ZEMOLIN, C. R.; SILVA, T. M. B. Reação de germoplasma comercial de soja a *Colletotrichum truncatum*. **Tropical Plant Pathology**, v.34, p.47-50, 2009.

CRUZ, C.D. **Programa Genes: Análise multivariada e simulação**. Viçosa : UFV, 2006. 175p.

GUIMARÃES, W. N. R. **Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L., Fabaceae) da coleção de germoplasma do departamento de agronomia da UFRPE**. 2005. 74f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

KAMIKOGA, A. T. M. **Método da folha destacada para avaliar resistência da soja ao oídio**. 2001. 86f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Pará.

MEDEIROS, J. G. S. **Reação de genótipos de pessegueiro a bacteriose causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *Pruni***. 2009. 79f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

MEDEIROS, L.A.M. **Resistência genética do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) ao *Colletotrichum lindemuthianum***. 2004. 116p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria.

MENDES, B.M.J.; BERGAMIN FILHO, A. Adaptação da técnica da cultura de folha destacada para quantificação dos parâmetros epidemiológicos monocíclicos da ferrugem do feijoeiro (*Uromyces phaseoli* var. *typica*). **Fitopatologia Brasileira**, v.11, p. 103-114, 1986.

MÜNCH, S.; LINGNER, U.; FLOSS, D.S.; LUDWIG, N.; SAUER, N.; DEISING, H.B. The hemibiotrophic lifestyle of *Colletotrichum* species. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, p. 41-51, 2008.

NECHET, K.L.; HALFELD-VIEIRA, B.A.; GIANLUPPI, V.; MEYER, M.C. **Avaliação de genótipos de soja em relação à antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e mela (*Tanatephorus cucumeris*) nas condições de Roraima**, 2004. 16p. Roraima: Embrapa Roraima. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 02).

PAULA JÚNIOR, T. J.; SILVA, M. B.; VIEIRA, R. F. Doenças causadas por fungos em hortaliças leguminosas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, p.63-71, 1995.

PEREIRA, M. J. Z. **Reação de acessos de *Capsicum* spp. a *Colletotrichum* sp., agente causal da antracnose em solanáceas**. 2005. 74f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

RIOS, G. P., ANDRADE, E. M. & COSTA, J. L. S. Avaliação da resistência de cultivares e linhagens do feijoeiro comum a diferentes populações de *Uromyces appendiculatus*. **Fitopatologia Brasileira**, v26, p.128-133, 2001.

SANTOS, D.; CORLETT, F. M. F.; MENDES, J. E. M. F.; WANDERLEY JÚNIOR, J. S. A. Produtividade e morfologia de vagens e sementes de variedades de fava no Estado da Paraíba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, p.1407-1412, 2002.

SANTOS, J. O.; ARAÚJO, A. S. F.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; FIGUEIREDO, M. V. B. Ontogenia da nodulação em feijão-fava (*Phaseolus lunatus*), **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.4, p.426-429, 2009.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT: user's guide**. Cary, NC: SAS INSTITUTE, 1993. 1022p.

SAUER, J. D. **Historical geography of crop plants – a select roster**. CRC Press, Boca Raton, Florida. 1993.

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

ZIMMERMANN, M. J. O.; TEIXEIRA, M. G. Origem e evolução. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. (Coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba : Potafos, 1996, p.57-70.

5. CAPÍTULO II

Extrato de nim no controle da antracnose em feijão-fava

Neem extract in the anthracnose control on lima bean

**Gerusa Rodrigues dos Santos Cavalcante¹, Eulália Maria Sousa Carvalho²,
Regina Lucia Ferreira Gomes³**

RESUMO

O emprego de extratos vegetais tem sido citado como eficiente no controle de doenças de plantas, seja pela ação fungitóxica direta ou pelo aumento no nível de resistência às doenças. Nesse sentido, objetivou-se avaliar o efeito do extrato bruto aquoso (EBA) de folhas nim (*Azadirachta indica* A. Juss) a 20% sobre o crescimento e a esporulação de *C. truncatum* e no controle da antracnose de 15 subamostras de feijão-fava. Para a avaliação sobre o crescimento, o EBA foi adicionado ao meio FDA em placas preparadas, colocando-se disco do fungo no centro de cada placa. Diariamente foram feitas medições do diâmetro das colônias em dois sentidos perpendiculares. O efeito na esporulação foi avaliado logo após a avaliação do efeito do EBA de nim sobre o crescimento, por meio da remoção seguida de contagem dos esporos em câmara de Neubauer. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições. Para a avaliação do EBA de folha de nim sobre a antracnose, empregaram-se folhas destacadas. A inoculação do fungo foi feita 24 horas após

¹ Mestrado em Agronomia, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal do Piauí (UFPI). Rua Dirce de Oliveira, 3597 - Campus da Socopo, 64.049-550, Teresina, PI, Brasil. E-mail: gerusarsc@hotmail.com.

² Departamento de Fitotecnia, CCA, UFPI. E-mail: rlfgomes@ufpi.edu.br.

³ Departamento de Fitotecnia, CCA, UFPI. E-mail: eulaliams@yahoo.com.br. Autor para correspondência.

a aplicação do extrato na folha, com uma suspensão de 10^5 conídios/mL ou água esterilizada para as testemunhas. A severidade da doença foi avaliada aos cinco e sete dias após a inoculação, utilizando-se uma escala de notas de 0 a 5, no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. O EBA de folhas de nim a 20% reduziu parcialmente o crescimento, não inibiu a esporulação de *C. truncatum* e quando aplicado em folha destacada de feijão-fava, não mostrou ação no controle da antracnose.

Palavras-chave: *Azadirachta indica*, *Colletotrichum*, extrato bruto aquoso, controle alternativo.

ABSTRACT

The use of vegetable extracts has been cited as efficient in controlling of plant diseases, either by its fungitoxic action or by increasing in resistance level to diseases. In this meaning, the aim of this work is to evaluate the aqueous crude extract (ACE) effect of the neem (*Azadirachta indica* A. Juss) leaves to 20% on the growth and sporulation *C. truncatum* and the control of 15 Lima bean subsamples to anthracnose. For the evaluation on growth, it was added ACE to the FDA in prepared plates. Daily the measurements of the colony diameter were made in two perpendicular directions. The effect in sporulation was evaluated after the end on growth, by removal of the spore counting in a Neubauer chamber. The experiments were made completely randomized design (CRD) with ten replications. It was used detached leaves in the evaluation of the ACE in neem leaf on anthracnose. The fungus inoculation was made 24 hours after extract application on the leaf with a 10^5 conidia/mL suspension or sterile water for witnesses. The disease severity was evaluated from five to seven days after inoculation and, using a grade scale from 0 to 5 in the completely randomized design with four replications. The ACE in neem leaves to 20% partly reduced the growth; however no inhibited the *Colletotrichum truncatum* sporulation and when the ACE was administrated in detached leaves from Lima bean, did not show effect on anthracnose control.

Key words: *Azadirachta indica*, *Colletotrichum*, aqueous crude extract, alternative control.

5.1. INTRODUÇÃO

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) foi domesticado no continente americano (ZIMMERMANN ; TEIXEIRA, 1996) e se encontra bastante difundido em toda a América tropical (YAGUIU et al., 2003). No Brasil, representa a segunda espécie mais cultivada do gênero *Phaseolus*, se destacando especialmente na região Nordeste como importante fonte de proteína para a população dessa região (OLIVEIRA et al., 2004).

A cultura do feijão-fava mostra grande adaptação às condições edafoclimáticas do Nordeste brasileiro, contudo apresenta um baixo rendimento por hectare devido, entre outros fatores, à ocorrência de doenças (SILVA et al., 2010). A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum* (CARVALHO, 2009), é uma das mais importantes doenças da cultura, sendo frequentemente encontrada no Brasil, especialmente nessa região (PAULA JÚNIOR et al., 1995).

A busca por produtos naturais que sejam eficientes no controle de doenças de plantas e que não apresentem efeitos negativos à saúde humana e ao meio ambiente tem aumentado nos últimos anos (CARNEIRO et al., 2007). Nesse sentido, compostos secundários podem desempenhar funções importantes nas interações planta-patógeno, atuando diretamente sobre o crescimento do patógeno, como substância fungitóxica, ou na indução de alguns mecanismos de defesa do hospedeiro (STANGARLIN et al., 1999). Essa indução da resistência, também conhecida como resistência induzida em plantas ou imunidade adquirida, envolve a ativação dos mecanismos latentes de resistência em uma planta por meio de tratamentos com agentes bióticos ou abióticos. Tais mecanismos de resistência podem ser estruturais, como papila, lignificação e tilose, ou bioquímicos, como o acúmulo de fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese (PASCHOLATI ; LEITE, 1995). A exploração dessa atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais pode se constituir, ao lado da indução de resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

Estudos têm demonstrado que óleos e extratos de várias espécies vegetais são eficientes no controle de doenças de plantas, seja pela ação

fungitóxica direta ou pelo aumento no nível de resistência às doenças da cultura tratada (CARNEIRO et al., 2007). Dentre essas, destaca-se o nim (*Azadirachta indica* A. Juss), recentemente introduzida na região Nordeste do Brasil e amplamente distribuído na região Norte do estado do Piauí aonde vem sendo utilizado na arborização urbana (CARVALHO, 2010). Pertencente à família Meliaceae, o nim é usado há séculos na produção de madeira ou como planta medicinal, e mais recentemente têm se difundido devido às substâncias inseticidas presentes nas suas folhas e frutos (CARNEIRO et al., 2007).

Pesquisas têm mostrado a possibilidade de controle de pragas e doenças com produtos do nim (CARNEIRO, 2003; MEDICE et al., 2007), fato relevante por proporcionar redução considerável na quantidade de produtos usados na lavoura. CARNEIRO (2003) ao avaliar comparativamente o emprego de óleo de nim e fungicida no controle do oídio do tomateiro constatou que em concentrações de 0,25% e 0,5%, não houve diferença entre os dois tratamentos testados. MEDICE et al., (2007), avaliando o efeito de óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja, constataram que o óleo de nim nas concentrações de 1%, 0,5% e 0,3% interferiu na germinação de uredinósporos de *Phakopsora pachyrhizi* e foi capaz de reduzir a severidade da doença em condições de casa de vegetação. Neste sentido, objetivou-se avaliar o efeito do extrato bruto aquoso (EBA) de folhas de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre o crescimento e esporulação de *C. truncatum* e no controle da antracnose de feijão-fava em condições de folhas destacadas.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no período de julho a setembro de 2010, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, em Teresina-Piauí (CCA/UFPI), localizada a 05°02'45"S e 42°46'57"W.

5.2.1. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica do extrato bruto aquoso de nim

Foi utilizado o isolado CT4 de *C. truncatum* obtido de folhas de feijão-fava com sintomas característicos de antracnose, coletadas no campo experimental do Departamento de Fitotecnia do CCA/UFPI, em Teresina – PI. O isolado foi

cultivado em meio de cultura FDA (feijão, dextrose, ágar), e preservado sob refrigeração para posterior utilização nos ensaios (Figura 1).

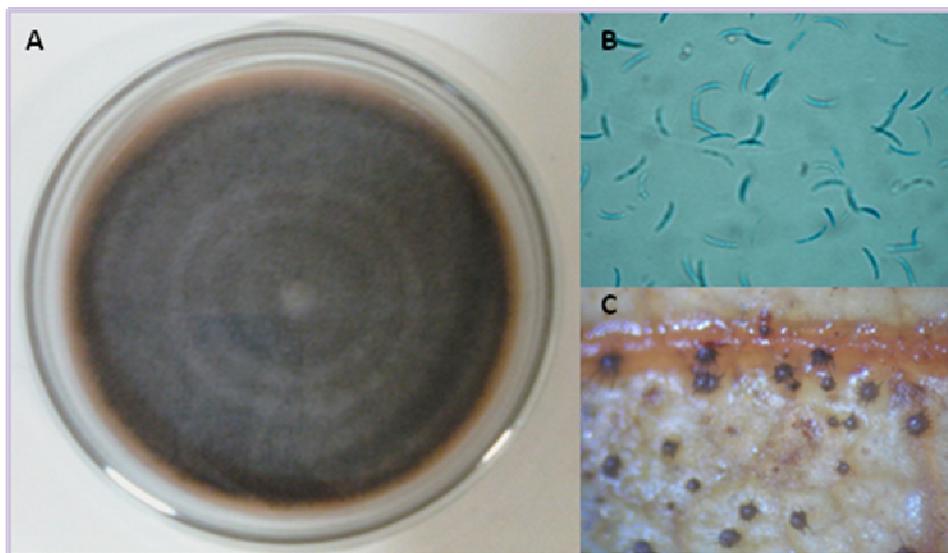


Figura 1. Isolado CT4 de *Colletotrichum truncatum* em meio de cultura feijão-dextrose-ágar (FDA) (A), esporos (B) e acérvulos (C).
Fonte: Gerusa Rodrigues (2010).

Para o preparo do extrato bruto aquoso (EBA), folhas de nim foram coletadas em plantas existentes no CCA-UFPI. Após a coleta, as folhas foram separadas dos ramos e secas em estufa a 40° C, seguida de trituração em liquidificador doméstico até obtenção da biomassa seca, na forma de um pó fino. Após a trituração, o pó seco obtido foi armazenado em recipiente fechado à temperatura ambiente para posterior utilização em todos os ensaios (RADÜNZ et al., 2002; COSTA et al., 2005).

A atividade antifúngica do EBA de nim a 20% foi avaliada sobre o crescimento micelial e esporulação de *C. truncatum*. Para a avaliação sobre o crescimento micelial de *C. truncatum*, inicialmente, prepararam-se placas de Petri contendo o meio de cultura FDA acrescido do extrato e de somente FDA, no caso das testemunhas. O FDA com EBA foi preparado adicionando-se 40g de biomassa seca em 100 mL de água destilada estéril. A mistura foi filtrada em tecido sintético e deixada em repouso à temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente foi centrifugadas a 4000 rpm, durante 5 minutos. O sobrenadante resultante foi adicionado à mesma quantidade de FDA, obtendo-se assim o meio acrescido do extrato na concentração de 20%. Para a testemunha foi utilizado o FDA sem extrato. Após a esterilização por autoclavação foram preparadas

placas colocando-se no centro de cada placa, um disco de micélio com 0,5 cm de diâmetro, do fungo *C. truncatum* cultivado em FDA durante 16 dias. Em seguida, as placas foram mantidas a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas. O crescimento micelial foi avaliado através da medição do diâmetro das colônias, em dois sentidos perpendiculares entre si, para reduzir o efeito de deformação das colônias, obtendo-se a média para cada repetição. As medições foram iniciadas 48 horas após a incubação e realizadas durante cinco dias.

A avaliação da ação do EBA de nim sobre a esporulação do fungo foi realizada imediatamente após o término da avaliação sobre o crescimento micelial. Para tanto, adicionaram-se em cada placa utilizada no ensaio anterior, 20 mL de solução paralisante, para inibição da germinação dos esporos. Em seguida, com o auxílio de alça de platina em formato de “o” procedeu-se a raspagem da superfície do meio de cultura para remoção dos esporos. A suspensão obtida foi filtrada em gaze para retirada dos fragmentos de hifa e a concentração de conídios (conídios. mL^{-1}) foi determinada utilizando-se câmara de Neubauer, calculando-se, posteriormente, o número de conídios por cm^{-2} de colônia para cada repetição dos tratamentos.

Os experimentos foram conduzidos em laboratório, dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições. A comparação entre as médias do tratamento com as médias da testemunha foi realizada pelo teste de Dunnett ($P < 0,05\%$), utilizando-se o programa Genes (CRUZ 2006).

5.2.2. Avaliação do efeito do EBA de folhas de nim a 20% no controle da antracnose em feijão-fava

Para a avaliação do EBA de nim no controle da antracnose foram empregadas folhas destacadas de feijão-fava de quinze subamostras oriundas do Banco Ativo de Germoplasma da UFPI (Tabela 1), classificadas quanto à resistência à antracnose (Capítulo I, Tabela 2) em altamente resistente (UFPI 673), moderadamente resistente (UFPI 655, UFPI 222), moderadamente suscetível (UFPI 656, UFPI 470) e altamente suscetível (UFPI 667, UFPI 664, UFPI 276, UFPI 465, UFPI 494, UFPI 676, UFPI 500, UFPI 274, UFPI 651 e UFPI 689).

Tabela 1. Relação das subamostras de feijão-fava avaliadas quanto ao efeito do extrato bruto aquoso de folhas de nim no controle da antracnose. Teresina-PI, 2010.

Subamostra	Nome popular	Local de coleta	Hábito de crescimento	Cor da semente
UFPI 655	Boca de moça	Olho d'água/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 656	Boca de moça	Barro Duro/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 667	Boca de moça	Palmeirais/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 664	Boca de moça	Riachinho/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 276	Pintada roxa	Cajazeiras/PB	Indeterminado	Roxa pintada
UFPI 222	BGH 882/92	Ipameri/GO	Indeterminado	Marrom
UFPI 465	NI	Mirador/MA	Indeterminado	Creme
UFPI 494	Fígado de galinha	Açailândia/MA	Indeterminado	Marrom claro
UFPI 470	NI	Teresina/PI	Indeterminado	Creme
UFPI 676	Boca de moça	Palmeirais/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 500	NI	Guaramiranga/CE	Indeterminado	Creme com hilo bege
UFPI 274	Fava Branca	Cajazeiras/PB	Indeterminado	Branca
UFPI 651	Boca de moça	Hugo Napoleão/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 673	Boca de moça	Barra D'alcântara/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado
UFPI 689	Boca de moça	Elesbão Veloso/PI	Indeterminado	Branca com hilo rajado

NI = Não identificada.

Primeiramente, sementes dessas subamostras foram plantadas em vasos de plástico contendo 4,0kg de terra vegetal adubada, conforme análise de solo, deixando-se uma planta/vaso após desbaste. Para cada subamostra foram previamente selecionadas oito folhas trifolioladas, completamente expandidas e com aproximadamente a mesma idade destacadas um dia antes da inoculação. Em seguida, as folhas destacadas foram acondicionadas em placa de Petri (150 x 20 mm) esterilizadas, contendo uma fina camada de algodão e um disco de papel de filtro umedecido com 20 mL de água, segundo metodologia descrita por MENDES ; BERGAMIN FILHO (1986) (Figura 2A).

O EBA de folhas de nim a 20% foi preparado adicionando-se 20 g de biomassa seca para cada 100 mL de água destilada estéril. A mistura foi filtrada em tecido sintético e deixada em repouso à temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente foi centrifugada a 4000 rpm, durante 5 minutos. O sobrenadante resultante foi coletado para avaliar o efeito protetor do EBA de nim a 20%, pulverizou-se as folhas destacadas de feijão-fava 24 horas antes da inoculação do fungo.

O inóculo foi preparado adicionando-se 20 mL de água destilada esterilizada à placa do fungo, cultivado em meio de cultura FDA a $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, durante 16 dias, removendo-se os conídios com uma alça de platina em formato "o". Em seguida, a suspensão foi filtrada em filtro de café e a concentração ajustada em 10^5 esporos/mL, com o auxílio da câmara de Neubauer.

A inoculação foi feita aos 40 dias após a semeadura, pulverizando-se a face superior e inferior da folha com aproximadamente 1,5 mL da suspensão de 10^5 conídios/mL (quatro folhas/subamostra) ou água esterilizada para as testemunhas (Figura 2B). Após a inoculação, as placas foram fechadas com filme plástico transparente para manter uma umidade elevada. Após 48 horas, em incubadora com temperatura ajustada para $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, o filme plástico foi retirado e as folhas mantidas nessas condições até a avaliação (Figura 2C).

A severidade da doença foi avaliada por três avaliadores, aos cinco e sete dias após a inoculação do fungo (DAI), utilizando-se uma escala de notas de 0 a 5, segundo CARVALHO (2009), em que: 0 = ausência de sintomas; 1 = traços a 10% da área foliar infectada; 2 = 11 a 25% da área foliar infectada; 3 = 26 a 50% da área foliar infectada, sem queda de folíolo; 4 = 51 a 75% da área foliar infectada, sem ou com queda de um dos folíolos; 5 = 76 a 100% da área foliar infectada, sem ou com queda de dois ou três folíolos. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Cada repetição foi constituída por uma folha trifoliolada.

Os dados da severidade foram submetidos à análise de variância. As médias transformadas para $\sqrt{x+1}$, utilizando-se o software SAS (1993), foram agrupadas pelo teste proposto por Scott-Knott (1974) ($P < 0,05\%$) e a comparação entre as médias das subamostras e testemunhas foi feita pelo teste de Dunnett ($P < 0,05\%$), utilizando-se o programa Genes (CRUZ 2006).

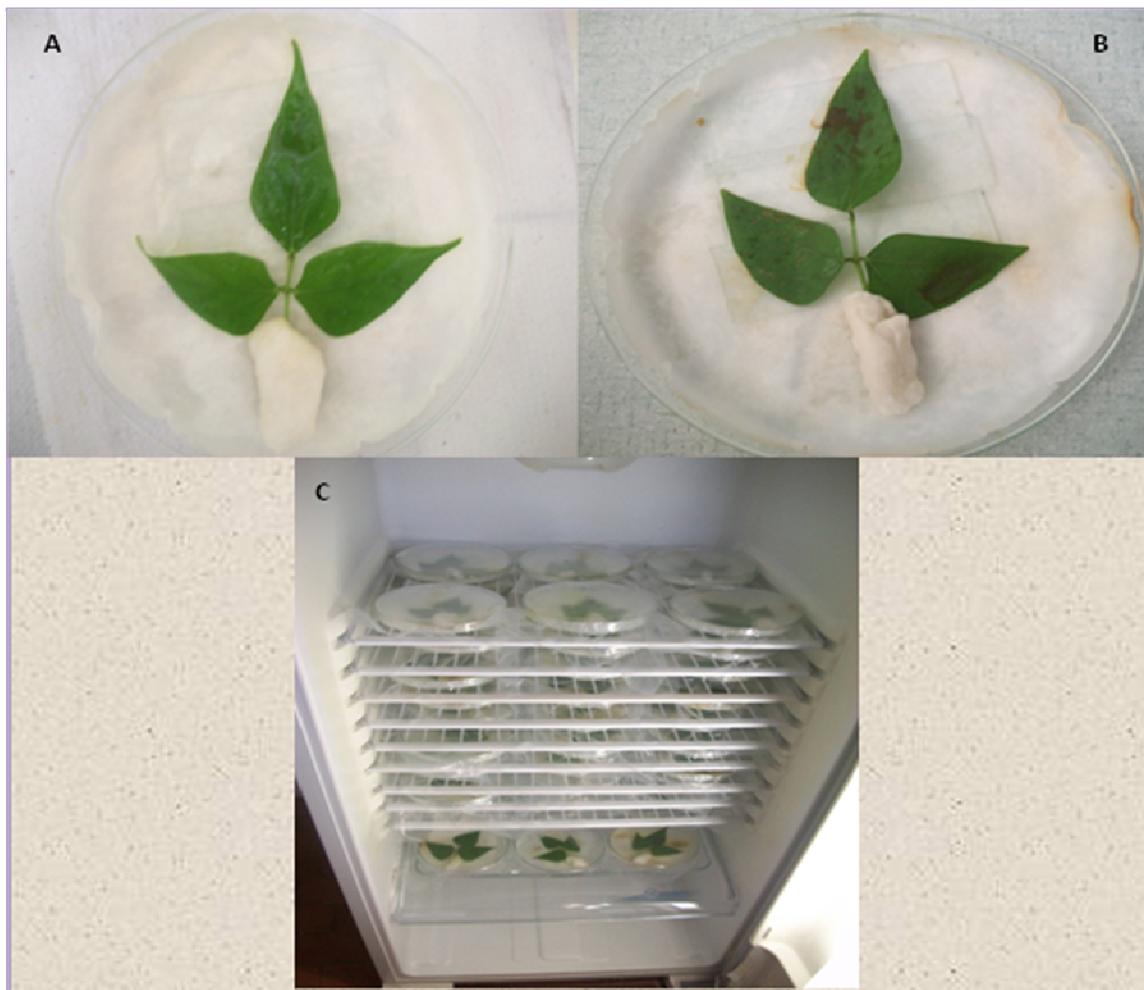


Figura 2. Folha de feijão-fava destacada, em placa de Petri (A); folha pulverizada com extrato de nim (B) e acondicionada em incubadora (C).
Fonte: Gerusa Rodrigues (2010).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica do extrato bruto aquoso de nim

O EBA de nim na concentração 20% exerceu efeito inibidor no crescimento micelial de *C. truncatum* em relação à testemunha (Tabela 2). Verificou-se que o diâmetro da colônia foi menor quando o fungo foi cultivado na presença do extrato diferindo significativamente da testemunha. Resultados semelhantes foram encontrados por vários autores. CARVALHO (2010), empregando extrato bruto de nim no controle de *C. gloeosporioides*, agente causal da antracnose do cajueiro, também constatou diminuição no diâmetro de

colônia com o aumento das concentrações do extrato. PIGNONI; CARNEIRO (2005), ao avaliarem o efeito de óleo de nim em diferentes concentrações, verificaram inibição no crescimento de colônias de *C. lindemuthianum* e *Alternaria solani*, nas concentrações de 0,25 e 1,25%.

Em relação ao efeito do EBA de nim sobre a esporulação (Tabela 2), observou-se que o número de conídios produzidos em meio de cultura com extrato foi igual ao número de conídios produzidos na testemunha (sem extrato). Resultado semelhante foi encontrado por CARVALHO (2010), ao avaliar o efeito de EBA de nim em diferentes concentrações, na produção de conídios de *C. gloeosporioides*. Segundo esse autor, o extrato de nim apresentou efeito de inibição parcial da esporulação somente nas concentrações de 5% e 10%. Já a concentração de 15%, não proporcionou inibição sendo igual à testemunha.

Tabela 2. Efeito do extrato bruto aquoso (EBA) de nim no diâmetro da colônia e produção de conídios de *Colletotrichum truncatum*. Teresina-PI, 2010.

Tratamentos	Diâmetro de colônia (cm)*	Conídios.cm ⁻² de colônia (x10 ⁴)*
Testemunha	8,03 A	14,55 A
EBA de nim a 20%	5,08 B	14,74 A
CV(%)	5,38	40,75

* Médias seguidas de mesma, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Dunnett (P < 0,05%).

COSTA et al. (2010), ao avaliarem a atividade *in vitro* de óleo de nim sobre o crescimento, esporulação, viabilidade de esporos, morfologia e produção de aflatoxinas de *Aspergillus flavus* constataram que o óleo de nim nas concentrações de 0,5 a 5,0% exerceu efeito inibidor no crescimento e aumento significativo na esporulação do fungo. CARVALHO (2009), em estudos de caracterização cultural de isolados de *C. truncatum*, cita que o isolado CT1 quando cultivado em meio FDA e incubado em temperatura de 26, 28 e 30°C apresentou menor diâmetro de colônia com maior produção de esporos. Segundo GRIFFIN (1994), citado por COUTO; MENEZES (2004), um meio que proporciona crescimento rápido resulta na exaustão dos nutrientes e liberação de metabólitos secundários pelo fungo nesse meio inibindo a produção de conídios.

5.3.2. Avaliação do efeito do nim no controle da antracnose do feijão-fava

O EBA de folhas de nim na concentração de 20% não exerceu efeito controlador da antracnose, uma vez que a severidade da doença nas subamostras de feijão-fava pulverizadas com extrato foi superior à severidade constatada em folhas destacadas sem o emprego do extrato (Capítulo I, Tabela 2) diferindo estatisticamente das testemunhas aos cinco e sete dias após a inoculação (Tabela 3). Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores (CARNEIRO et al., 2007; PIGNONI; CARNEIRO, 2005; CARNEIRO, 2003). CARNEIRO et al. (2007) relataram que o extrato de folhas de nim não foi eficiente no controle do oídio do feijoeiro. PIGNONI; CARNEIRO (2005), avaliando o efeito *in vitro* do óleo emulsionável de nim na severidade da antracnose do feijoeiro e pinta preta do tomateiro, constataram redução apenas na severidade da pinta preta. Em relação ao controle de *C. acutatum* em frutos de morangueiro, ALMEIDA et al. (2009) verificaram que todos os extratos avaliados reduziram o tamanho das lesões, no entanto, os extratos de arnica e nim não diferiram significativamente da testemunha. Por outro lado, MEDICE et al. (2007) ao avaliarem o efeito *in vitro* e *in vivo* de diferentes óleos essenciais sobre o fungo *Phakopsora pachyrhizi*, agente da ferrugem asiática da soja, constataram que todos os óleos aplicados e, entre esses o de nim, tiveram efeito no controle da doença.

Após a aplicação do EBA de nim, verificou-se que as folhas ficaram mais enrijecidas, escuras ou amareladas em alguns casos, provavelmente em função de efeito fitotóxico. Existem relatos de fitotoxicidade causados por extratos de nim em concentrações altas. Essa reação depende da espécie de planta sobre a qual são aplicados, sua idade e seu estágio de desenvolvimento (CARNEIRO, 2003).

Tabela 3. Médias de severidade (SEV) e testemunhas (TEST) das subamostras de feijão-fava a *Colletotrichum truncatum* com extrato de nim aos cinco e sete dias após a inoculação (DAI). Teresina – PI, 2010.

Subamostra	Cinco DAI		Sete DAI	
	SEV*	TEST ¹	SEV*	TEST ¹
UFPI 655	4,63 B a	0,00 b	5,00 B a	0,00 b
UFPI 656	4,13 B a	0,00 b	4,75 B a	0,00 b
UFPI 667	4,94 B a	0,00 b	5,00 B a	0,00 b
UFPI 664	4,75 B a	0,00 b	5,00 B a	0,00 b
UFPI 276	4,88 B a	0,00 b	5,00 B a	0,00 b
UFPI 222	3,38 A a	0,00 b	4,49 A a	0,00 b
UFPI 465	5,00 B a	0,00 b	5,00 B a	0,00 b
UFPI 494	4,81 B a	0,00 b	5,00 B a	0,00 b
UFPI 470	5,00 B a	0,00 b	5,00 B a	0,00 b
UFPI 676	4,88 B a	0,00 b	5,00 B a	0,00 b
UFPI 500	4,88 B a	0,00 b	5,00 B a	0,00 b
UFPI 274	4,38 B a	0,00 b	4,92 B a	0,00 b
UFPI 651	4,69 B a	0,00 b	5,00 B a	0,00 b
UFPI 673	3,19 A a	0,00 b	4,00 A a	0,00 b
UFPI 689	5,00 B a	0,00 b	5,00 B a	0,00 b
CV (%)	14.73		9.03	

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott ($P < 0,05\%$). Dados originais.

¹Médias seguidas de mesma letra minúscula, na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunnett ($P < 0,05\%$). Dados originais.

A baixa eficiência apresentada pelo extrato de folhas de nim no controle da antracnose de feijão-fava pode ter sido em decorrência, entre outros fatores, do tipo e concentração do extrato utilizado (CARNEIRO, 2003; CARNEIRO et al., 2007; MARTINEZ, 2002), concentração de esporo, a doença e fungo avaliado. A azadiractina, principal composto bioativo presente no nim, é biodegradável e de persistência bastante curta no ambiente (MARTINEZ, 2002). Sua quantidade no extrato de folhas de nim de acordo com esse autor é menor do que a presente no óleo. Segundo ALVES (2008), as propriedades antifúngicas de plantas são dependentes de fatores inerentes às plantas como, por exemplo, órgão utilizado, idade e estágio vegetativo, além de fatores ambientais. A eficiência do extrato depende também da espécie envolvida, do tipo de doença controlada e dos processos tecnológicos utilizados na obtenção e manipulação do extrato (SILVA et al., 2005).

De acordo com PIGNONI ; CARNEIRO (2005), as condições ambientais, a pressão de inóculo extremamente favoráveis ao desenvolvimento dos

sintomas da doença avaliada, a decomposição da azadiractina com o passar do tempo e pequena ação dos compostos ativos do nim sobre o fungo estudado são fatores que interferem no controle.

A diminuição do efeito protetor do nim com o passar do tempo foi relatada por vários autores. ALMEIDA, et al. (2009), ao avaliarem o efeito de extratos vegetais no controle de *C. acutatum*, em folhas destacadas, constataram que a eficiência do extrato variou em função do número de dias após o tratamento. Segundo esses autores, para a maioria dos extratos avaliados, a severidade da doença foi maior após 10 dias de aplicação do extrato. Por outro lado, CARNEIRO et al. (2007), ao avaliarem o efeito do óleo e dos extrato de sementes e de folhas de nim no controle do oídio do feijoeiro, constataram que o extrato de folhas não foi eficiente no controle do oídio do feijoeiro e que a pulverização dos tratamentos 6h antes da inoculação diminuiu significativamente o número de manchas e sinais do patógeno nas folhas quando comparada com a pulverização 78h antes da inoculação. Dessa forma, o aumento da severidade da antracnose nas subamostras de feijão-fava pulverizadas com o EBA de folhas de nim 24h antes da inoculação de *C. truncatum*, pode também estar relacionado à redução do teor de azadiractina após 24h da pulverização (Tabela 2).

Outro fator que pode ter contribuído para a baixa eficiência do extrato de nim e aumento da severidade da doença é a presença de substâncias no extrato bruto. Segundo BIZI et al. (2008) ao avaliarem produtos alternativos no controle do oídio em mudas de eucalipto constataram que os extratos de alfavaca, ginkgo, hortelã e eucalipto além de estimularam o patógeno aumentaram a severidade da doença. DIAS-ARIEIRA et al. (2010) investigando a atividade de óleos de nim e eucalipto no controle de *C. acutatum* em morangueiro concluíram que o óleo de nim, em dosagens de 0,5% e 1,0% estimularam a ocorrência natural de sintomas em frutos na avaliação de campo, porém não diferiram estatisticamente da testemunha.

5.4. CONCLUSÕES

O extrato bruto aquoso de folhas de nim a 20% reduz parcialmente o crescimento e não inibe a esporulação de *C. truncatum*;

Em folha destacada de feijão-fava, o extrato bruto aquoso de folhas de nim a 20% não mostrou ação de controle da antracnose causada por *C. truncatum*.

5.5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, T. F., CAMARGO, M., PANIZZI, R. C. Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v.35, p.196-201, 2009.

ALVES, K. F. **Controle alternativo da antracnose do pimentão com extratos vegetais**. 2008. 47f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Curso de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

BIZI, R. M.; GRIGOLETTI JUNIOR, A.; AUER, C. G.; MIO, L. L. M. D. Produtos alternativos no controle do oídio em mudas de eucalipto. **Summa Phytopathologica**, v.34, p. 144-148, 2008.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v.29, p.262-265, 2003.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v.33, p.34-39, 2007.

CARVALHO, E. M. S. **Antracnose em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.): Caracterização do agente causal e reação de genótipos a *Colletotrichum truncatum***. 2009. 53f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual Paulista.

CARVALHO, P. R. S. **Extratos vegetais: potencial elicitor de fitoalexinas e atividade antifúngica em antracnose do cajueiro**. 2010. 64f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual Paulista.

COSTA, C. L.; GERALDO, M. R. F.; ARROTÉIA, C. C.; KEMMELMEIER, C. *In vitro* activity of neem oil [*Azadirachta indica* A. Juss (*Meliaceae*)] on *Aspergillus flavus* growth, sporulation, viability of spores, morphology and Aflatoxins B1 and B2 production. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v.1, p.292-299, 2010.

COSTA, L. C. B.; CORRÊA, R. M.; CARDOSO, J. C. W.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FERRI, P. H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, v.23, p.956-959, 2005.

COUTO, E.F.; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.406-412, 2004.

CRUZ, C.D. **Programa Genes: Análise multivariada e simulação**. Viçosa : UFV, 2006. 175p.

DIAS-ARIEIRA, A. R.; FERREIRA, L. R.; ARIEIRA, J. O.; MIGUEL, E. G.; DONEGA, M. A.; RIBEIRO, R. C. F. Atividade de óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v.36, p.228-232, 2010.

MARTINEZ, S.S. Composição do nim. In: MARTINEZ, S.S. **O Nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2002. p.23-30.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; MAGNO JÚNIOR, R. G.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.83-90, 2007.

MENDES, B. M. J.; BERGAMIN FILHO, A. Adaptação da técnica da cultura de folha destacada para quantificação dos parâmetros epidemiológicos monocíclicos da ferrugem do feijoeiro (*Uromyces phaseoli* var. *typica*). **Fitopatologia Brasileira**, v.11, p. 103-114, 1986.

OLIVEIRA, A.P.; ALVES, E. U.; ALVES, A. U.; DORNELAS, C. S. M.; SILVA, J. A.; PÔRTO, M. L.; ALVES, A. V. Produção de feijão-fava em função do uso de doses de fósforo em um neossolo regolítico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, p.543-546, 2004.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In.: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, Cap. 22, p.417-452, 1995.

PAULA JÚNIOR, T.J.; SILVA, M.B.; VIEIRA, R.F. Doenças causadas por fungos em hortaliças leguminosas. **Informe Agropecuário**, v.17, n.182, p.63-71, 1995.

PIGNONI, E. & CARNEIRO, S. M. T. P. G. Severidade da antracnose em feijoeiro e pinta preta em tomateiro sob diferentes concentrações de óleo de nim em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.8, p.68-72, 2005.

RADÜNZ, L. L.; MELO, E. C.; MARTINS, P. M.; SANTOS, R. H. S.; SANTOS, R. R.; MACHADO, M. C. Secagem de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) em secador de leito fixo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.5, p.79-82, 2002.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT: user's guide**. Cary, NC: SAS INSTITUTE, 1993. 1022p.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v.30, p.129-137, 2000.

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

SILVA, J. A.; OLIVEIRA, M. G. O.; SOUZA, L. T.; MICHEREFF, S. J.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A. Reação de genótipos de fava (*Phaseolus lunatus* L.) à podridão do colo causada por *Sclerotium rolfsii*, Recife, PE, 2010. In.: **X JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX 2010 – UFRPE** : Recife, PE. Disponível em: <<http://www.sigeventos.com.br/jepex/inscricao/resumos/0001/R0679-1.PDF>>.

Acesso em: 19 jan. 2011.

SILVA, M. B.; ROSA, M. B.; BRASILEIRO, B. G.; ALMEIDA, A.; SILVA, C. A. **Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas**. In.: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Coord.). Controle Alternativo de Pragas e Doenças. Viçosa: EPAMIG/CTZM, 2005. p.221-246.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, p. 19-21, 1999.

YAGUIU, A.; MACHADO-NETO, N. B.; CARDOSO, V. J. M. Grouping of Brazilian accesses of lima beans (*Phaseolus lunatus* L.) according to SDS-PAGE patterns and morphological characters. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 25, p. 7-12, 2003.

ZIMMERMANN, M. J. O.; TEIXEIRA, M. G. Origem e evolução. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. (Coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba : Potafos, 1996, p.57-70.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Entre as trinta subamostras de feijão-fava avaliadas, pertencentes ao Banco Ativo de Feijão-fava da UFPI, a maioria (73%) se comportou como altamente suscetível e moderadamente suscetível à antracnose, aos sete dias após a inoculação em folha destacada. As subamostras UFPI 673 e UFPI 251 destacaram-se entre as demais, como material altamente resistente a antracnose sendo, portanto, genótipos promissores para utilização em programas de melhoramento do feijão-fava. Esses resultados indicam a necessidade de dar continuidade na busca por mais genótipos de feijão-fava resistentes à doença.

O extrato bruto aquoso de folhas de nim na concentração de 20% apresentou baixo efeito fungitóxico em relação a *C. truncatum* e não exerceu ação de controle da antracnose de feijão-fava. Dessa forma, considerando que a resposta da planta à doença depende de vários fatores, é importante que outros estudos sejam realizados na busca de formas alternativas para o controle da doença. O emprego de óleo de nim ou do extrato bruto aquoso em outras concentrações bem como intervalos diferentes entre a aplicação do tratamento e a inoculação do fungo devem ser testados visando alcançar este objetivo.