

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANTRACNOSE EM FEIJÃO-FAVA: CARACTERIZAÇÃO DO
AGENTE CAUSAL E REAÇÃO DE GENÓTIPOS A
*Colletotrichum truncatum***

Eulália Maria Sousa Carvalho

Engenheira Agrônoma

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Setembro de 2009

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANTRACNOSE EM FEIJÃO-FAVA: CARACTERIZAÇÃO DO
AGENTE CAUSAL E REAÇÃO DE GENÓTIPOS A
*Colletotrichum truncatum***

Eulália Maria Sousa Carvalho

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida P. da Cruz Centurion

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Proteção Vegetal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Setembro de 2009

C331a Carvalho, Eulália Maria Sousa
Antracnose em feijão-fava: caracterização do agente causal e reação de genótipos a *Colletotrichum truncatum* / Eulália Maria Sousa Carvalho. -- Jaboticabal, 2009
xiv, 53 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009
Orientadora: Maria Aparecida Pessoa da Cruz Centurion
Banca examinadora: João Carlos de Oliveira, Luiz Evaldo de Moura Pádua, Ivana Marino Bárbaro, Rita de Cássia Panizzi
Bibliografia

1. *Phaseolus lunatus*. 2. Folha destacada. 3. Patogenicidade. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 635.651

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ANTRACNOSE EM FEIJÃO-FAVA: CARACTERIZAÇÃO DO AGENTE CAUSAL
E REAÇÃO DE GENÓTIPOS A *Colletotrichum truncatum*.

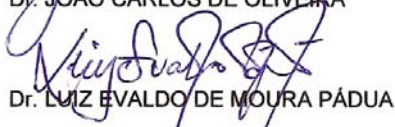
AUTORA: EULÁLIA MARIA SOUSA CARVALHO

ORIENTADORA: Dra. MARIA APARECIDA PESSOA DA CRUZ CENTURION

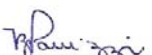
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR em AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) pela Comissão Examinadora:


Dra. MARIA APARECIDA PESSOA DA CRUZ CENTURION

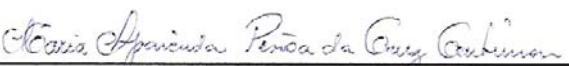

Dr. JOÃO CARLOS DE OLIVEIRA


Dr. LUIZ EVALDO DE MOURA PÁDUA


Dra. IVANA MARINO BÁRBARO


Dra. RITA DE CÁSSIA PANIZZI

Data da realização: 24 de setembro de 2009.


Presidente da Comissão Examinadora
Dra. MARIA APARECIDA PESSOA DA CRUZ CENTURION

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Eulália Maria Sousa Carvalho nasceu em Teresina, Piauí, filha de José Luiz de Sousa Neto e Eulália Barbosa de Sousa. É Engenheira Agrônoma, graduada em 1978 pela Federação das Escolas Superiores do Maranhão, em São Luís - MA. Obteve o título de mestre em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia do Solo, em 1983, na Universidade Federal de Viçosa - MG. Ingressou no curso de doutorado em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, da Unesp - Câmpus de Jaboticabal, em 2006. Publicou vários artigos científicos e 01 capítulo de livro. Iniciou sua carreira profissional na Universidade Federal do Piauí, onde é professora do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias desde 1979.

**Ao meu esposo, Sócrates
e meus filhos, Leonardo, Stella e Marina com
carinho DEDICO.**

AGRADECIMENTOS

À Deus, fonte de luz e de paz.

Às Universidades Estadual Paulista e Federal do Piauí, pela oportunidade de realização desse sonho.

Aos Coordenadores do Curso de Doutorado Interinstitucional - DINTER, professor Dr. Luiz Evaldo de Moura Pádua (Universidade Federal do Piauí) e professor Dr. Jairo Osvaldo Cazetta (Universidade Estadual Paulista), pela dedicação em prol do curso.

À Prof^a. Maria Aparecida Pessoa da Cruz Centurion, pelas sugestões, orientação e amizade.

Aos professores Drs. Antonio Baldo Geraldo Martins, Domingos Fornasieri Filho, Edson Luís Mendes Coutinho, José Carlos Barbosa, Modesto Barreto e Renato de Melo Prado, pelos ensinamentos transmitidos durante o curso.

Aos professores membros das bancas do exame de qualificação e de defesa da tese pelas sugestões.

Aos colegas do DINTER pela convivência prazerosa.

Aos professores e amigos Paulo Roberto Santos Carvalho e João Batista Lopes pelo apoio e colaboração ao longo de todo o trabalho.

Aos professores Paulo Ramalho, Regina Lúcia, Maria Acelina e Lucília Crispim pela amizade e incentivo para que esse sonho se tornasse realidade.

Aos professores Ademir e Ângela Célis pelo incentivo e colaboração durante a execução da pesquisa.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal/UNESP - JABOTICABAL pelo carinho e presteza no atendimento.

Ao amigo Alberto Luís (ITEM) pela colaboração ao longo do processo de escrita da tese.

Aos técnicos do Laboratório de Fitossanidade Valdeci e Toinha pela ajuda no preparo de materiais.

À aluna do curso de Agronomia Elzane Freitas, pela valiosa ajuda durante a execução dessa pesquisa.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Considerações sobre a cultura do feijão-fava	3
2.2. Doenças do feijão-fava	4
2.3. A antracnose	5
2.3.1. Importância e sintomatologia	5
2.3.2. Caracterização do agente causal	6
2.3.3. Infecção e colonização do fungo	8
2.4. Reação de genótipos a <i>Colletotrichum truncatum</i>	9
2.5. Considerações sobre a técnica da folha destacada	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1. Caracterização do agente causal da antracnose do feijão-fava	13
3.1.1. Origem dos isolados de <i>Colletotrichum truncatum</i>	13
3.1.2. Caracterização morfológica e cultural dos isolados	13
3.1.3. Avaliação da patogenicidade	15
3.2. Avaliação da reação de genótipos do feijão-fava a <i>Colletotrichum truncatum</i>	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1. Caracterização do agente causal da antracnose do feijão-fava	23

4.1.1. Caracterização morfológica e cultural de <i>Colletotrichum truncatum</i>	23
4.1.2. Avaliação da patogenicidade dos isolados de <i>Colletotrichum truncatum</i>	31
4.2. Avaliação da reação de genótipos do feijão-fava a <i>Colletotrichum truncatum</i>	33
5. CONCLUSÕES	43
6. REFERÊNCIAS	44

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Temperatura (T), umidade relativa (UR) e precipitação (P) verificadas durante as duas épocas de avaliação dos genótipos de feijão-fava. Teresina-Piauí, 2008.	20
2. Genótipo, subamostra, nome comum, local de coleta, hábito de crescimento e cor da semente do feijão-fava utilizado nos experimentos. Teresina-PI, 2008.	21
3. Comprimento e largura de conídios de isolados de <i>Colletotrichum truncatum</i> do feijão-fava, quando cultivados em meio feijão - dextrose - ágar a 28°C e fotoperíodo de 12 horas, aos 10 dias de incubação. Teresina-Piauí, 2007	23
4. Efeito do meio de cultura no diâmetro da colônia, produção de conídios, germinação e formação de apressórios de isolados de <i>Colletotrichum truncatum</i> do feijão-fava. Teresina-Piauí, 2008	26
5. Diâmetro de colônia e produção de conídios de isolados de <i>Colletotrichum truncatum</i> do feijão-fava, quando cultivados em meio feijão-dextrose-ágar ou batata-dextrose-ágar em diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas. Teresina-Piauí, 2008.	28
6. Germinação de conídios e formação de apressórios de isolados de <i>Colletotrichum truncatum</i> do feijão-fava, quando cultivados em meio feijão-dextrose-ágar ou batata-dextrose-ágar em diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas. Teresina-Piauí, 2008.	30

7.	Patogenicidade de isolados de <i>Colletotrichum truncatum</i> do feijão-fava, quando avaliados em folha destacada e na planta aos sete dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008.	31
8.	Patogenicidade de isolados de <i>Colletotrichum truncatum</i> do feijão-fava, quando avaliados em folha destacada e na planta aos 10 dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008.	32
9.	Reação de genótipos do feijão-fava a <i>Colletotrichum truncatum</i> , quando avaliados em regime de chuva (época 1) em folha destacada e na planta aos cinco dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008.	35
10.	Reação de genótipos do feijão-fava a <i>Colletotrichum truncatum</i> , quando avaliados em regime de chuva (época 1) em folha destacada e na planta aos sete dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008..	36
11.	Reação de genótipos do feijão-fava a <i>Colletotrichum truncatum</i> , quando avaliados em regime de ausência de chuva (época 2) em folha destacada e na planta aos cinco dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008. ...	37
12.	Reação de genótipos do feijão-fava a <i>Colletotrichum truncatum</i> , quando avaliados em regime de ausência de chuva (época 2) em folha destacada e na planta aos sete dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008.	38
13.	Reação de genótipos do feijão-fava a <i>Colletotrichum truncatum</i> em folha destacada e na planta aos cinco dias após a inoculação (DAI), em regime de chuva (época 1) e na ausência de chuva (época 2). Teresina-Piauí, 2008.....	40

14. Reação de genótipos do feijão-fava a <i>Colletotrichum truncatum</i> em folha destacada e na planta aos sete dias após a inoculação (DAI), em regime de chuva (época 1) e na ausência de chuva (época 2). Teresina-Piauí, 2008.	41
--	----

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Inoculação da folha com <i>Colletotrichum truncatum</i> (A), planta em câmara úmida após inoculação (B) e folhas destacadas em placas de Petri na incubadora (C). Teresina-Piauí, 2008	17
2. Escala de notas usadas para avaliar o nível de infecção de <i>Colletotrichum truncatum</i> em feijão-fava	19
3. Genótipos de feijão-fava avaliados. Teresina-PI, 2008.....	21
4. Conídios (A) e apressórios (B a F) de <i>Colletotrichum truncatum</i> , agente causal da antracnose do feijão-fava.Teresina-Piauí, 2007	24
5. Folhas de feijão-fava (A, B e C) com sintomas característicos de antracnose. Teresina-Piauí, 2008	33

ANTRACNOSE EM FEIJÃO-FAVA: CARACTERIZAÇÃO DO AGENTE CAUSAL E REAÇÃO DE GENÓTIPOS A *Colletotrichum truncatum*

RESUMO – A antracnose é freqüentemente encontrada em feijão-fava na região nordeste do Brasil, porém é pouco estudada. Nesse sentido, objetivou-se caracterizar o agente causal da antracnose, determinar a reação de genótipos a *Colletotrichum truncatum* e investigar a viabilidade da utilização da técnica de folhas destacadas em estudos relacionados a essa doença. Isolados foram caracterizados em relação a aspectos morfo culturais quando cultivados em meios de cultura batata-dextrose-água (BDA) e feijão-dextrose-água (FDA), em temperaturas de 26, 28 e 30°C e fotoperíodo de 12 horas. A patogenicidade dos isolados e a reação dos genótipos foram avaliadas em folhas destacadas e na planta. O comportamento dos genótipos foi avaliado em duas épocas, no período chuvoso (17 de abril a 02 de junho/2008) e período seco (13 de junho a 29 de julho/2008). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco e quatro repetições para avaliação da patogenicidade e dos genótipos, respectivamente. As características morfológicas e culturais variaram de acordo com o isolado e condições de cultivo, porém, foram compatíveis com as descritas para a espécie *C. truncatum*. A patogenicidade foi comprovada, porém não foram detectadas diferenças significativas entre os isolados. Os primeiros sintomas da doença apareceram aos três dias após a inoculação em folhas destacadas e plantas. Os genótipos UFPI - 578, UFPI - 468 e UFPI - 26 foram suscetíveis a *C. truncatum*. Quando avaliados em folha destacada não diferiram estatisticamente entre si no nível de infecção, independente da época. Em planta e na ausência de chuva, UFPI - 26 apresentou o maior nível de infecção, enquanto UFPI - 578, o menor. A correlação positiva e significativa ($P < 0,0001$) entre folha destacada e planta comprova a viabilidade do emprego da técnica de folhas destacadas em estudos relacionados a essa doença.

Palavras-chave: *Phaseolus lunatus*, apressório, folha destacada, patogenicidade

**ANTHRACNOSE IN LIMA BEAN: CHARACTERIZATION OF CAUSAL AGENT AND
REACTION OF GENOTYPES TO *Colletotrichum truncatum***

ABSTRACT - Anthracnose is often found in lima bean plantations in the northeast region of Brazil, however, has been little studied. In this sense, the goals were to characterize the causal agent of anthracnose, determine the reaction of genotypes to *Colletotrichum truncatum* and investigate the viability of using the technique of detached leaves in studies related to this disease. Isolates were characterized in relation to aspects morphocultural when grown in culture BDA and FDA, in temperatures of 26, 28 and 30°C and photoperiod of 12 hours. The pathogenicity of the isolates and the reaction of the genotypes were evaluated in detached leaf and plant. The behavior of the genotypes were evaluated in two seasons, in the presence and absence of rain. The design was completely randomized to five and four replicates to evaluate the pathogenicity and genotypes, respectively. The cultural and morphological characteristics varied according with the isolates and conditions of the grown, but were compatible with those described for the species *C. truncatum*. The pathogenicity was proved no significant differences between the isolates. The first symptoms of the disease appeared to three days after inoculation in detached leaves and plants. The genotypes UFPI - 578, UFPI - 468 and UFPI - 26 were susceptible to *C. truncatum*. When evaluated in detached leaves did not differ significantly among themselves in the level of infection, independent of the season. In plants, UFPI - 26 was the most susceptible in season 2 with the highest level of infection, while the UFPI - 578 was the least susceptible. The positive and significant correlation ($P < 0.0001$) between detached leaves and plant prove the viability of employment of detached leaves in studies related to this disease.

Keywords: *Phaseolus lunatus*, appressoria, detached leaf, pathogenicity

1. INTRODUÇÃO

A fava (*Phaseolus lunatus* L.), também conhecida como feijão-fava ou feijão-lima, é cultivada em quase todo o território nacional com relativa importância econômica em estados do nordeste brasileiro, em consórcio com outras culturas, em áreas pequenas e dispersas (VIEIRA, 1992). Entre as espécies cultivadas do gênero *Phaseolus*, ocupa o segundo lugar em consumo, depois do feijão-comum (MAQUET et al., 1999).

A fava é considerada mais tolerante à seca, ao excesso de umidade e calor que o feijão-comum (VIEIRA, 1992). Em função de sua rusticidade apresenta relativa importância econômica e social com colheita prolongada e realizada no período seco. Apesar do cultivo limitado, a fava por apresentar grãos com elevados teores de proteína (AZEVEDO et al., 2003), constitui-se em importante fonte de alimento para a população em vários municípios do Nordeste, juntamente com o feijão-caupi, milho e mandioca.

No Piauí, a produção anual de fava, em 2007, foi de 346 toneladas com produtividade média de 184 kg de grãos ha⁻¹ (IBGE, 2008). O baixo rendimento da cultura é resultado de vários fatores. Dentre esses se destacam a não adoção de tecnologia de produção (SANTOS et al., 2002), a ausência de programas de adubação mineral e orgânica (ALVES et al., 2008) e ocorrência de pragas e doenças (VIEIRA, 1992; VIEIRA et al., 1992). Segundo o CIAT (1980), a fava é menos afetada por doenças do que o feijão-comum, sendo as viroses as doenças mais importantes (VIEIRA, 1992). Entretanto, a antracnose é frequentemente encontrada em culturas de fava no Brasil, especialmente na região nordeste e precisa ser melhor estudada (PAULA JÚNIOR et al., 1995).

A antracnose caracteriza-se por 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 massa esbranquiçada, com numerosas setas (PAULA JÚNIOR et al., 1995).

A cultura da fava tem merecido pouca atenção por parte dos órgãos de pesquisa, resultando num limitado conhecimento de vários aspectos relacionados à cultura e, dentre esses a resistência de genótipos a doenças. Embora na fava observa-se menor ocorrência de doenças que no feijão-comum (VIEIRA, 1992), a antracnose pode tornar-se problema com a expansão da cultura como já ocorreu com outras doenças fúngicas (FIGUEIREDO, 2001; VALE et al., 1997). No feijão-comum, doenças como mofo branco, mancha angular, mela e murcha de *Fusarium* passaram a ocorrer, com maior intensidade, após a expansão da cultura para grandes áreas irrigadas (VALE et al., 1997).

Estudos envolvendo fungos fitopatogênicos em folhas destacadas e plantas têm evidenciado a existência de correlação entre si, demonstrando-se assim a viabilidade dessa técnica. MENDES & BERGAMIN FILHO (1986) constataram a existência de correlação, na quantificação dos parâmetros epidemiológicos monocíclicos da ferrugem do feijoeiro, em plantas em vasos com aqueles obtidos em folhas destacadas. Avaliando a resistência de cultivares e linhagens do feijoeiro comum a diferentes populações de *Uromyces appendiculatus*, RIOS et al. (2001) constataram que as reações de resistência e suscetibilidade em folhas destacadas foram semelhantes às observadas em folhas na planta.

A alta variabilidade apresentada pelo gênero *Colletotrichum* e a ocorrência frequente de antracnose em feijão-fava, na região Nordeste do Brasil, reforçam a necessidade de estudos mais aprofundados dessa doença. Nesse sentido, objetivou-se neste trabalho caracterizar o agente causal da antracnose, determinar a reação de genótipos a *C. truncatum* e investigar a viabilidade da utilização da técnica de folhas destacadas em estudos relacionados a essa doença.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Considerações sobre a cultura do feijão-fava

A fava, também conhecida como feijão-lima ou feijão-fava (SANTOS et al., 2002) pertence ao filo Magnoliophyta, à classe Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae, gênero *Phaseolus* e espécie *Phaseolus lunatus* L. (CRONQUIST, 1988). Apresenta ciclo anual, bianual ou perene, germinação epígea e hábito de crescimento indeterminado ou determinado (BEYRA & ARTILES, 2004). A partir do segundo nó, as folhas são trifolioladas e mais escuras que as encontradas em outras espécies, mesmo depois do amadurecimento das vagens (SANTOS et al., 2002). As vagens são compridas, achatadas, curvas, coriáceas, pontiagudas, às vezes deiscentes, de coloração bege quando secas, contendo de duas a quatro sementes com grande variação de cor do tegumento e tamanho, com peso de 100 sementes variando de 30 a 300g (VIEIRA, 1992).

A fava é uma das principais leguminosas cultivadas em muitos países tropicais. É considerada mais tolerante à seca, ao excesso de umidade e calor que o feijão-comum (VIEIRA, 1992). Embora seu consumo seja relativamente menor do que o feijão-comum representa uma importante fonte de alimento para a população da região Nordeste. Algumas variedades de fava, como as de tegumento bege-claro, apresentam um teor de proteína (26,70%) superior ao do feijão-comum tipo carioca (23,37%) e ligeiramente inferior ao encontrado em feijão-caupi (28,94%) o que demonstra a sua importância como fonte alternativa de proteína de origem vegetal para essa população (XAVIER-FILHO, 1988; ANTUNES et al., 1995; AZEVEDO et al., 2003).

No ano 2007 foram produzidas, no Brasil, 13.181 toneladas de grãos de fava, numa área plantada de 35.172 hectares sendo os maiores produtores os Estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Sergipe, Piauí, e Minas Gerais (IBGE, 2008). O plantio é realizado em covas espaçadas de 1,00 m x 0,50 m (FILGUEIRA, 2000) sem

adoção de tecnologia de produção, que vise o aumento da produtividade (SANTOS et al., 2002).

2.2. Doenças do feijão-fava

Várias doenças ocorrem em feijão-fava, porém poucas apresentam importância econômica. Dentre essas se destacam as viroses (SENGOOBA et al., 1997; FARIA & MAXWELL, 1999; MELGAREJO et al., 2007), o míldio (EVANS et al., 2002; 2007; DAVIDSON et al., 2008), a ferrugem (LYNCH et al., 2006; BONDE et al., 2008; SLAMINKO et al., 2008), a podridão de raiz (DAVIDSON et al., 2002; DAVEY et al., 2008) e, a antracnose e mela (PAULA JÚNIOR et al., 1995).

Na costa leste dos Estados Unidos, o míldio causado pelo fungo *Phytophthora phaseoli* Thaxt é a mais importante doença da fava. O impacto da doença, etiologia e estratégias de manejo foram estudados por EVANS et al. (2002; 2007). Também foram detectadas nesse país, a ferrugem causada por *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. e a podridão de raiz causada pelo fungo *Phytophthora capsici* Leonian (LYNCH et al., 2006; DAVEY et al., 2008).

No Brasil existem poucos registros de doença em fava devido, provavelmente, a pouca exploração econômica da cultura. Em ensaios comparativos entre feijões dos gêneros *Vigna* e *Phaseolus* conduzidos por VIEIRA et al. (1992), o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) apresentou em todos os ensaios, ferrugem (*Uromyces phaseoli* var. *typica*), enquanto o feijão-fava, doença não identificada, que provocava aparecimento de manchas foliares avermelhadas. FARIA & MAXWELL (1999), analisando amostras de *Phaseolus* spp. coletadas em vários estados brasileiros com sintomas característicos de geminivirus, relataram a ocorrência do vírus do mosaico-dourado do feijão-fava (BLGMV). Outras doenças como a mela (*Thanatephorus cucumeris* (Frank) DonK) e a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus & Moore, também ocorrem no Brasil (COSTA, 1986; VIEIRA, 1992). Apesar de não existir estimativa de perda, a mela e a antracnose são frequentemente

encontradas em plantios de fava especialmente na região Nordeste (PAULA JÚNIOR et al., 1995).

2.3. Antracnose

2.3.1. Importância e sintomatologia

Patógenos do gênero *Colletotrichum* têm sido relatados como parasitas de várias espécies de plantas. A antracnose, causada por fungos deste gênero, é uma das doenças de maior importância para muitas plantas cultivadas (VALE et al., 1997; CHONGO et al., 2002; COSTA et al., 2006; MAFACIOLI et al., 2006; TOZZE JÚNIOR et al., 2006). Em feijão-fava, apesar de não existir relato das perdas na produção em função dessa doença, a antracnose tem sido citada como de ocorrência frequente precisando, portanto ser melhor estudada (COSTA, 1986; VIEIRA, 1992; PAULA JÚNIOR et al., 1995).

Os sintomas da antracnose da 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). Lesões avermelhadas e necrosadas também podem ser observadas no hypocótilo, pecíolos, nervuras e na superfície foliar, resultando em folhas encarquilhadas e plantas subdesenvolvidas (COSTA, 1986).

De modo geral, as manchas foliares ocorrem com maior frequência e intensidade em condições de clima quente e úmido. A alta umidade, tanto na forma de umidade relativa como na forma de uma película de água sobre a superfície vegetal e, temperaturas relativamente elevadas (20 – 30°C) são condições indispensáveis ao desenvolvimento dessas doenças (BEDENDO, 1995). O Piauí, segundo classificação de Köppen, apresenta clima quente e úmido no norte, sul e sudoeste, e clima

semiárido no leste, centro-sul e sudeste, com temperatura média anual de 28°C e umidade relativa do ar média de 60%. As precipitações pluviométricas apresentam grande variabilidade espacial e temporal. No sul do Estado, o período chuvoso começa a partir de novembro e se prolonga até março. No centro e norte, as chuvas têm início em dezembro/janeiro com maior intensidade nos meses de fevereiro, março e abril (PIAUÍ, 1997). Portanto, apresenta condições favoráveis ao aparecimento dessas doenças entre elas a antracnose.

2.3.2. Caracterização do agente causal

O gênero *Colletotrichum*, agente causal da antracnose, apresenta grande plasticidade fenotípica (TOZZE JÚNIOR et al., 2006) e a identificação de espécies tem sido realizada pela observação das características morfológicas e culturais associadas ou não a outros métodos de identificação do fungo (MAYONJO & KAPOORIA, 2003; COUTO & MENEZES, 2004; TOZZE JÚNIOR et al., 2006; ANDRADE et al., 2007; MAFACIOLI et al., 2006, 2008; THAN et al., 2008; VILLANUEVA-ARCE et al., 2008). O emprego conjunto de caracteres morfológicos, técnicas moleculares e teste de patogenicidade possibilitaram identificar as espécies *C. acutatum*, *C. capsici* e *C. gloeosporioides*, como patógenos de frutos comerciais de pimenta na Tailândia (THAN et al., 2008).

Ao avaliarem o tamanho dos conídios de *C. truncatum* de soja MAYONJO & KAPOORIA (2003) constataram variações entre os isolados de 15-31 µm e 2-7,6 µm para comprimento e largura, respectivamente. Após oito dias de cultivo o diâmetro das colônias foi maior (51-84 mm) em meio batata-dextrose-ágar (BDA) do que em extrato de malte-ágar (38-55 mm). Quanto à cor, o micélio aéreo variou de acordo com o meio de cultura. Em BDA apresentava-se branco, marrom ou cinza e em extrato de malte-ágar, marrom e cinza. As colônias apresentaram margens crenada, dentada e sinuosa.

Na Tailândia, PHOTITA et al. (2005) constataram diferenças significativas entre grupos morfológicos de *Colletotrichum* spp. em relação ao tamanho e taxa de

crescimento em BDA. *Colletotrichum truncatum* apresentou conídios com maior comprimento (20 - 31µm) e menor largura (3 - 4µm) diferindo de *C. gloeosporioides* (grupos 1, 2 e 3) e de *C. musae*. Em temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C, *C. truncatum* apresentou as menores taxas de crescimento, 5,7; 7,1 e 7,4 mm/dia, respectivamente.

Em estudos de caracterização de isolados de *Colletotrichum* sp., agente causal da antracnose em solanáceas, TOZZE JÚNIOR et al. (2006) verificaram que alguns isolados apresentavam morfologia semelhante a *C. acutatum* e outras a *C. gloeosporioides*. Constataram também, para todos os isolados, maiores velocidades de crescimento em temperatura de 25°C, com exceção do isolado PA06 que cresceu mais a 28°C.

THAN et al. (2008), avaliando cinco grupos morfológicos de espécies de *Colletotrichum*, não encontraram diferenças significativas na taxa de crescimento entre isolados de uma mesma espécie. O tempo para o aparecimento da lesão no teste de patogenicidade variou em função do método de inoculação. Quando isolados foram inoculados em *Capsicum annuum* cv. *Bangchang* com ferimento, a lesão apareceu aos três dias após a inoculação e sem ferimento, aos nove dias.

Os fatores nutricionais relacionados ao crescimento e esporulação de *C. gloeosporioides* foram investigados por vários autores. Segundo SANGEETHA & RAWAL (2008), o manitol foi a melhor fonte de carbono para o crescimento e maltose para a esporulação. Estes dois processos também foram influenciados com a suplementação do meio batata-água com glicose, maltose ou amido (MAFACIOLI et al., 2008).

Segundo COUTO & MENEZES (2004) a germinação de conídios de *C. musae* foi maior em água destilada esterilizada do que em meio batata-dextrose (BD), 8 horas após a incubação a 27°C. Quanto aos apressórios, apresentaram-se de várias formas e na maioria das vezes de coloração escura. Também foram constatadas variações na coloração das colônias de branca, cinza-claro, cinza-escuro a rosada com produção de massa de conídios de cor laranja, na superfície. O micélio aéreo variou de flocoso sem conídios aparentes, a micélio escasso, submerso e bem esporulado. Segundo os

autores, a pigmentação dos apressórios do gênero *Colletotrichum* está relacionada com a capacidade de penetração no tecido do hospedeiro.

Estudos de caracterização são fundamentais para que se identifique corretamente e se conheça a amplitude da variabilidade existente entre isolados de um determinado patógeno. Essas informações são essenciais para o desenvolvimento de métodos de controle, seja químico, genético ou cultural, os quais tornam possível o manejo adequado da cultura (TOZZE JÚNIOR et al., 2006).

2.3.3. Infecção e colonização do fungo

O ciclo de vida de espécies de *Colletotrichum* é hemibiotrófico, com o estabelecimento de uma fase biotrófica seguida de necrotrófica. Para estabelecer uma relação de parasitismo compatível, o fungo produz inicialmente sobre a cutícula do hospedeiro, um apressório melanizado e, após a penetração hifas primárias, sem causar a morte das células. Este estágio do processo de infecção é chamado biotrófico. Posteriormente, hifas secundárias são formadas e se espalham matando as células do hospedeiro, estabelecendo-se a fase necrotrófica do ciclo do fungo. Esta fase começa entre 48 a 72 horas após a inoculação dependendo das condições ambientais (MÜNCH et al., 2008).

As espécies de *Colletotrichum* possuem diversas estratégias para a colonização do tecido dependendo da espécie e suscetibilidade do hospedeiro. Em lentilhas (*Lens culinarias* Medik), *C. truncatum* comporta-se como hemibiotrófico intracelular (CHONGO et al., 2002), enquanto em soja, hemibiotrófico subcuticular (MANANDHAR et al., 1985).

No processo de infecção de *C. dematium* em folhas de caupi o conídio começa a germinar 6 horas após a inoculação (hai), formando apressórios diretamente ou na extremidade do tubo germinativo e com 14 horas, o apressório melaniza iniciando a penetração diretamente no tecido do hospedeiro. Lesões marrons surgem na folha com aproximadamente 48 horas e acérvulos com uma ou duas setas escuras, 70 hai (SMITH et al., 1999).

Em lentilha, o processo de infecção por isolados de *C. truncatum* inicia com a germinação dos conídios entre 3 a 6 hai. Os apressórios são formados entre 6 a 12 hai com “peg” penetrando diretamente na cutícula e células da epiderme. Após 24 hai, hifas crescem inter e intracelularmente no tecido do hospedeiro. Em cultivar suscetível o tempo de aparecimento das lesões variou de 72 a 144 horas e de até 14 dias após a inoculação, em cultivar resistente (CHONGO et al., 2002).

Informações sobre os fatores ambientais que favorecem os processos de pré-penetração e de infecção são relevantes no desenvolvimento de sistemas de previsão de doenças e podem contribuir para direcionar ações de controle. No patossistema *Colletotrichum*-goiaba, a infecção por *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, foi crescente com o aumento da temperatura, diferentemente da germinação de conídios e formação de apressórios. A 30°C e período de molhamento de 24 horas, para ambas as espécies de *Colletotrichum*, a incidência de antracnose atingiu 100% dos frutos, aos 10 dias após a inoculação (SOARES et al., 2008).

2.4. Reação de genótipos a *Colletotrichum truncatum*

Em feijão-fava não há registros de estudos de avaliação de genótipos visando resistência a antracnose causada pelo fungo *C. truncatum*. No entanto, para outras culturas como a soja e lentilha tais informações tem sido investigadas (CHONGO et al., 2002; BUCHWALDT et al., 2004; NECHET et al., 2004; COSTA et al., 2006; TULLU et al., 2006).

A resistência das plantas a doenças depende de vários fatores e dentre estes a idade das plantas e isolado do fungo. Em estudos de avaliação da resistência de cultivares de soja a *C. truncatum*, COSTA et al. (2006) verificaram para todas as cultivares, que a reação de resistência foi mais acentuada quando *C. truncatum* foi inoculado em soja no estágio fenológico V5/V6. Quando as cultivares foram analisadas em função dos quatro isolados inoculados não foram observadas diferenças.

Em Roraima, NECHET et al. (2004) avaliaram o comportamento de genótipos de soja em relação à antracnose (*C. truncatum*) e mela (*Thanatephorus cucumeris*) e constataram diferenças estatísticas significativas entre os genótipos avaliados. A incidência de antracnose variou de 2,8% (Tracajá e Pati) a 29% (IAC-8) e a de mela de 8% (UFV-9 e Juçara) a 55% (BR-36).

Em lentilha (*Lens culinaris*), o processo de infecção por *C. truncatum* é fortemente afetado pela reação de resistência do hospedeiro e a patogenicidade do isolado, variando desde uma fase sem sintomas com restrito crescimento de hifas a uma rápida expansão da lesão. A fase assintomática tem duração de três dias após a inoculação e a fase destrutiva entre três e seis dias após a inoculação (CHONGO et al., 2002). Na busca de materiais resistentes a antracnose entre seis espécies silvestres de lentilhas, TULLU et al. (2006) encontraram duas espécies resistentes às raças de *C. truncatum* Ct0 e Ct1.

Em estudos de identificação de germoplasma de lentilha resistente a *C. truncatum*, BUCHWALDT et al. (2004) verificaram que 95% dos acessos avaliados foram suscetíveis em condições de campo quando inoculados com o mesmo isolado. O emprego de sete acessos diferenciadores na caracterização da variabilidade patogênica de 50 isolados obtidos no Canadá permitiu identificar também duas raças do patógeno.

Em estudos de caracterização da reação de germoplasma crioulo de feijoeiro comum a 12 raças de *C. lindemuthianum*, os genótipos andinos CF 31, CF 36, CF 62 e CF 63 e os meso-americanos CF 22, CF 66 e Vermelho apresentaram-se como promissores para a utilização em programas de melhoramento genético de feijoeiro, tendo apresentado índice de resistência superior a 75% (MEDEIROS et al., 2008).

2.5. Considerações sobre a técnica da folha destacada

Os primeiro relatos sobre a utilização de folhas destacadas em estudos envolvendo fungos patogênicos referem-se a trabalhos realizados por Farlow (1885) e

Mains (1917) citados por RIOS et al. (2001). A partir de então, diversos trabalhos foram conduzidos objetivando avaliar o emprego da técnica com diferentes finalidades e condições de enraizamento (MORAES & SALGADO, 1982; MENDES & BERGAMIN FILHO, 1986; RIOS et al., 1994a; 1994b; 1995; 2001; MAFACIOLI et al., 2006; 2008).

A técnica da folha destacada segundo RIOS et al. (1994a; 1994b) permite estudos detalhados sobre doenças foliares, resistência genética às doenças, epidemiologia e aspectos fisiológicos da planta. O seu emprego é vantajoso por ser uma técnica econômica, precisa no controle do ambiente, rápida, de fácil execução e exigir pouco espaço. Como fator limitante ao uso dessa técnica tem-se a morte relativamente rápida das folhas, quando não ocorre o enraizamento ou a formação de calos no pecíolo da folha (Yarwood, 1946 citado por MENDES & BERGAMIN FILHO, 1986).

Em feijoeiro, MENDES & BERGAMIN FILHO (1986) não constatarem diferenças de enraizamento entre folhas trifolioladas e folhas primárias quando destacadas da planta mãe. No entanto, as folhas trifolioladas foram mais suscetíveis a *Uromyces appendiculatus* do que as primárias.

MORAES & SALGADO (1982) conduziram experimentos com folhas destacadas visando padronizar uma técnica simples e prática para avaliar reações de plantas de amendoim a *Cercospora arachidicola* Hori e *C. personata* (B & C.) Ell. & Ev. A utilização das folhas mais novas, porém completamente expandidas, permitiu uma melhor manifestação dos sintomas causados por estes fungos. O número de lesões foi maior quando a superfície superior das folhas foi inoculada por meio de pulverização e o regime de luz alternada (10 horas de luz e 14 horas de escuro) foi o mais favorável ao desenvolvimento dos sintomas causados pelos fungos.

Estudos comparativos entre resultados obtidos quando se empregaram folhas destacadas e plantas, tem evidenciado semelhanças entre si. MENDES & BERGAMIN FILHO (1986) constatarem a existência de correlação, na quantificação dos parâmetros epidemiológicos monocíclicos da ferrugem do feijoeiro, em plantas em vasos com aqueles obtidos em folhas destacadas. Avaliando a resistência de cultivares e linhagens

do feijoeiro comum a diferentes populações de *Uromyces appendiculatus*, RIOS et al. (2001) constataram que as reações de resistência e suscetibilidade em folhas destacadas foram semelhantes às observadas nas folhas na planta.

O método da folha destacada também apresentou eficiência na avaliação da resistência de variedades de soja a *Microsphaera diffusa* e de cultivares de *Vigna angularis* a *Phytophthora vignae* f. sp. *adzukicola* (KAMIKOGA, 2001; HARADA & KONDO, 2009) sendo o seu emprego recomendado por estes autores em testes de avaliação da resistência a essas doenças.

Outra aplicação da técnica da folha destacada é na avaliação da patogenicidade de isolados. MORAES & SALGADO (1982) e MAFACIOLI et al. (2006; 2008) empregaram folhas destacadas para avaliar a patogenicidade de isolados de fungos fitopatogênicos. De acordo com MAFACIOLI et al. (2008), ao avaliarem a agressividade de isolados de *C. gloeosporioides* em folhas destacadas de pupunheira (*Bactris gasipaes*) em três estádios de desenvolvimento verificaram diferenças significativas na agressividade, apenas em folhas completamente expandidas e com desenvolvimento intermediário.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização do agente causal da antracnose do feijão-fava

Os experimentos foram realizados no período de fevereiro de 2007 a março de 2008, na Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, em Teresina-Piauí (05°05'S e 42°49'W).

3.1.1. Origem dos isolados de *Colletotrichum truncatum*

Os isolados foram obtidos de folhas de feijão-fava com sintomas característicos de antracnose, coletadas em Teresina (05°05' S e 42°49' W) e nos distritos Nova Esperança e Santa Rita pertencentes ao município de Água Branca (05°53' S e 42°38' W), no Estado do Piauí.

Para obtenção de culturas puras, empregou-se o método indireto, no qual fragmentos de tecido foliar doente, após desinfestação 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 incubadas 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 batata-dextrose-ágar (BDA) para posterior caracterização. Três isolados foram obtidos e identificados como CT1 (Teresina), e CT2 e CT3 (Água Branca: distritos Nova Esperança e Santa Rita, respectivamente).

3.1.2. Caracterização morfológica e cultural dos isolados

A avaliação morfológica dos conídios foi realizada em culturas puras após 10 dias de cultivo em meio 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) a $28\pm 1^{\circ}\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas. Lâminas foram

preparadas com uma solução corante de azul de algodão em lactofenol e 50 conídios de cada isolado tiveram o comprimento e largura medidos em microscópio ótico, com uso do programa computacional Leica Qwin Lite. Os conídios, além das dimensões, foram classificados quanto à forma, seguindo-se a classificação proposta por SUTTON (1980). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com três tratamentos (três isolados) e cinquenta repetições, sendo os dados submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de acordo com os procedimentos do programa ESTAT (1994). A forma dos apressórios foi determinada observando-se as lâminas preparadas para avaliar o percentual de apressórios formados na caracterização cultural.

Para a caracterização cultural avaliaram-se os efeitos dos meios BDA e FDA e três temperaturas de incubação (26, 28 e 30°C) e com fotoperíodo de 12 horas. O crescimento micelial dos três isolados quando cultivados em BDA ou FDA e em temperaturas de 26, 28 e 30°C consistiu na medição diária do diâmetro das colônias em dois sentidos diametralmente opostos, obtendo-se a média para cada repetição. As medições foram iniciadas 48 horas após a incubação em temperaturas de 26, 28 e 30°C e realizadas durante cinco dias. A determinação da esporulação foi realizada logo após o término das avaliações do crescimento micelial, mediante o preparo de suspensão de conídios de cada placa com 20 mL de solução contendo 27 mL de metanol, 63 mL de água e 15 mL de formol a 37% (TOIT & RAUTENBACH, 2000) diluída em água na proporção de 1:4 e remoção dos esporos com alça de platina em formato de "o". Essas suspensões foram filtradas em dupla camada de gaze, e as concentrações dos conídios determinadas em câmara de Neubauer, obtendo-se a média de duas leituras para cada repetição dos tratamentos.

As avaliações da germinação dos conídios e formação de apressórios foram realizadas em lâminas de vidro esterilizadas contendo em toda a superfície o meio BDA ou FDA e uma gota de 0,1 mL de uma suspensão de 10^6 conídios mL^{-1} espalhada com alça de Drigalsky. Em cada lâmina foram colocadas duas lamínulas e após serem acondicionadas em placas de Petri contendo um chumaço de algodão umedecido foram

cobertas com um plástico transparente para manter a umidade elevada. Após seis horas de incubação, na presença de luz e em temperaturas de 26, 28 ou 30°C colocou-se uma solução corante de azul de algodão em lactofenol, determinando-se os percentuais de conídios germinados sem apressórios e germinados com apressórios em relação a aproximadamente 100 conídios observados ao microscópio ótico na área corada delimitada pela lamínula. Considerou-se germinado o conídio com tubo germinativo com comprimento igual ou superior que a maior largura do conídio.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, no esquema fatorial 3 x 2 x 3, sendo três isolados (CT1, CT2 e CT3), dois meios de cultura (BDA e FDA) e três temperaturas (26, 28 e 30°C) e para comparação das médias utilizou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, de acordo com os procedimentos do SAS (1993). Com relação às características percentuais de germinação e de formação de apressórios, os dados foram transformados para arco seno $\sqrt{p/100}$. Para as características diâmetro de colônias e produção de conídios foi feita correlação de Pearson.

Quanto às características cor e formato das colônias, e cor do micélio, foram determinadas observando-se culturas do fungo com 15 dias, quando cultivado em FDA e BDA, na temperatura de 28°C±1°C e fotoperíodo de 12 horas.

3.1.3. Avaliação da patogenicidade

Na avaliação do comportamento patogênico, os isolados foram inoculados em plantas de feijão-fava, subamostra UFPI-578 pertencente ao Banco Ativo de Germoplasma de Feijão-Fava da Universidade Federal do Piauí, em condições de telado e em laboratório, empregando-se a técnica de folhas destacadas. Para a inoculação foram previamente selecionadas, em cada planta, três folhas completamente expandidas e com aproximadamente a mesma idade, sendo duas para avaliação da

resistência a *C. truncatum* na planta e a outra para o ensaio com folha destacada. As plantas foram cultivadas em vasos contendo 4 kg de terra, com histórico de cultivo de feijão-fava, deixando-se uma planta por vaso após desbaste.

O inóculo foi preparado adicionando-se 20 mL de solução Tween 80 na concentração de 0,1% às placas de cada isolado cultivado em meio FDA e os conídios removidos com uma alça de platina em formato de “o”. Em seguida, as suspensões foram filtradas em dupla camada de gaze, e as concentrações dos conídios determinadas em câmara de Neubauer. A inoculação foi feita aos 45 dias após a semeadura, pulverizando-se a face superior e inferior da folha com aproximadamente 1,5 mL de uma suspensão de conídios, em duas concentrações (10^4 conídios mL⁻¹ e 10^6 conídios mL⁻¹) ou com solução Tween 80 na concentração de 0,1% para as testemunhas (Figura 1A). Após a inoculação, as plantas foram cobertas durante 48 horas com sacos de plástico transparente, para manter a umidade elevada (Figura 1B). Em seguida, o saco foi retirado permanecendo as plantas em telado com sombrite 50%, até a avaliação final da patogenicidade.

As folhas foram destacadas no dia anterior à inoculação e acondicionadas em placas 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 e BERGAMIN FILHO (1986). A inoculação foi realizada no mesmo dia que as plantas, utilizando-se as mesmas suspensões de conídios. Após a inoculação das folhas as placas foram fechadas com filme plástico transparente para manter a umidade elevada. Após 48 horas, em incubadora com temperatura ajustada para 28°C ±1°C e fotoperíodo de 12 horas, o filme plástico foi retirado e as folhas mantidas nessas condições até a avaliação final da patogenicidade (Figura 1C).



Figura 1. Inoculação da folha com *Colletotrichum truncatum* (A), planta em câmara úmida após inoculação (B) e folhas destacadas em placas de Petri na incubadora (C). Teresina-Piauí, 2008.

A patogenicidade foi avaliada aos sete e dez dias após a inoculação com base no nível de infecção, estimado por três observadores, através de escala de notas (Figura 3), onde: 0 = ausência de sintoma; 1 = traços a 10% da área foliar infectada; 2 = de 11 a 25% da área foliar infectada; 3 = de 26 a 50% da área foliar infectada, sem queda de folíolo; 4 = de 51 a 75% da área foliar infectada, sem ou com queda de um dos folíolos; 5 = de 76 a 100% da área foliar infectada, sem ou com queda de dois ou três folíolos.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. No ensaio em telado, cada repetição foi constituída de uma planta com duas folhas inoculadas, obtendo-se a média das notas atribuídas, enquanto em folhas destacadas foi representada por uma folha trifoliolada. Os dados foram submetidos à análise de variância, no esquema fatorial $3 \times 2 + 1$ (três isolados, duas concentrações e uma testemunha) empregando-se o programa SAS (1993) e a comparação das médias da testemunha com as dos demais tratamentos foi realizada pelo teste de Dunnett. Foi feita a análise de correlação de Pearson entre os dados das variáveis folha destacada e planta aos sete e dez dias após as inoculações realizadas.

3.2. Avaliação da reação de genótipos do feijão-fava a *Colletotrichum truncatum*

Os experimentos foram realizados, na Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, em Teresina- Piauí (05°05'S e 42°49'W).

A reação de subamostras de feijão-fava a *C. truncatum* foi avaliada em duas épocas distintas. Na primeira, o experimento foi conduzido no período de 17 de abril a 02 de junho/2008, em regime de chuva (época 1) e, a segunda de 13 de junho a 29 de julho/2008, na ausência de chuva (época 2). As temperaturas, umidades relativas e precipitações ocorridas diariamente nas duas épocas encontram-se na Tabela 1.

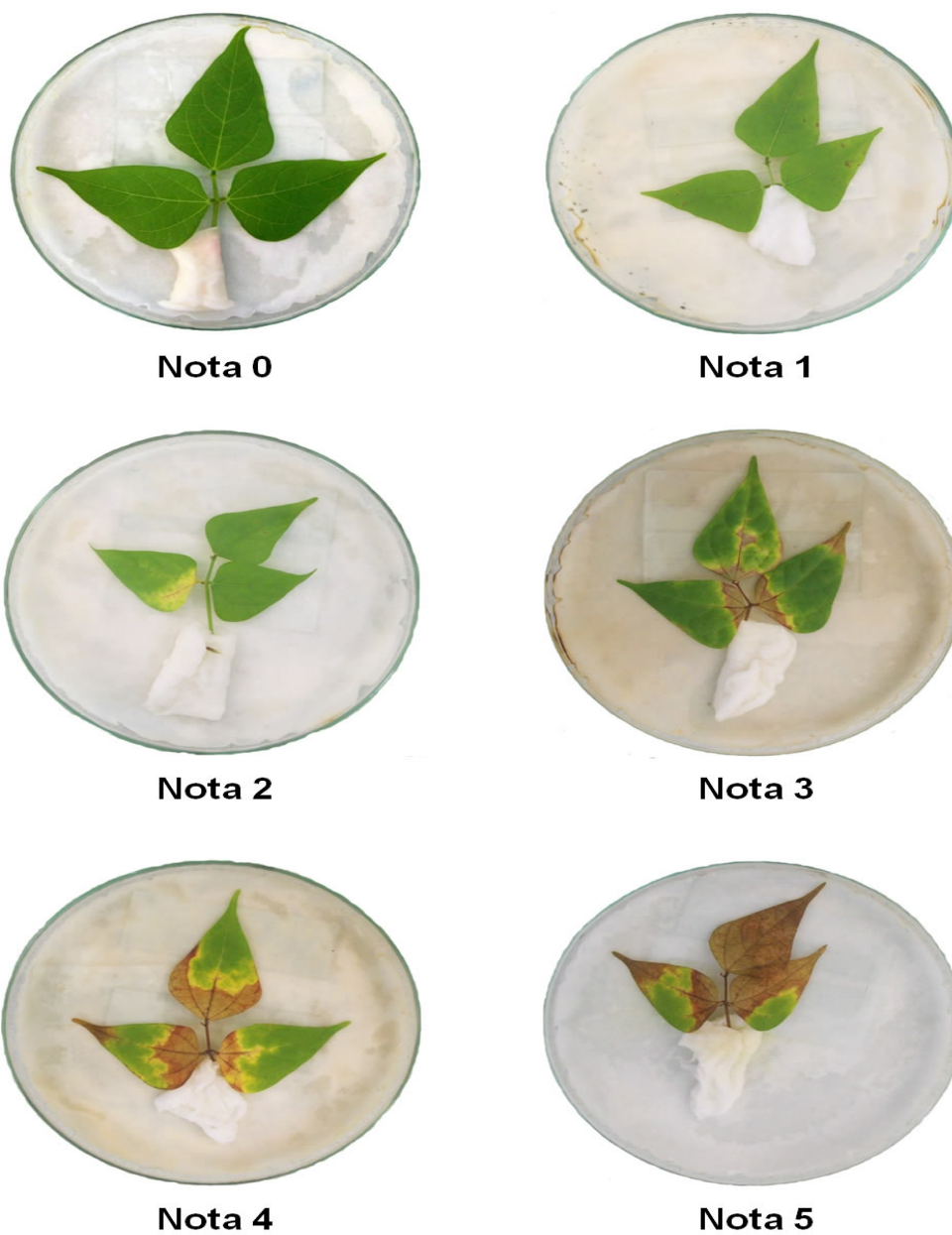


Figura 2. Escala de notas usadas para avaliar o nível de infecção de *Colletotrichum truncatum* em feijão-fava.

Tabela 1. Temperatura (T), umidade relativa (UR) e precipitação (P) verificadas durante as duas épocas de avaliação dos genótipos de feijão-fava. Teresina-Piauí, 2008.

Época 1				Época 2			
Data	T (°C)	UR (%)	P (mm)	Data	T (°C)	UR (%)	P (mm)
17/04/2008	27,13	84,33	0,4	13/06/2008	27,97	72,67	0,3
18	26,63	86,67	17,3	14	27,13	77,67	0
19	27,53	81,67	0	15	27,47	78,67	0
20	28,53	80,33	0	16	29,50	66,00	0
21	28,10	83,00	9,3	17	29,53	72,67	0
22	27,93	87,33	32,6	18	34,40	66,67	0
23	27,20	85,00	1,9	19	27,20	67,67	0
24	27,47	86,33	8,4	20	27,20	68,00	0
25	27,73	82,67	0	21	26,53	72,00	0
26	27,40	84,00	22	22	26,20	73,00	0
27	27,40	85,33	46,8	23	27,87	66,67	0
28	27,20	90,67	0	24	28,33	66,00	0
29	25,93	92,33	47,7	25	27,13	70,00	0
30	27,13	90,33	2,7	26	27,27	69,00	0
01	28,40	76,00	0	27	27,40	63,00	0
02	27,20	84,00	0	28	26,93	64,33	0
03	27,93	81,33	3	29	27,47	67,00	0
04	29,33	76,00	0	30	27,33	68,33	0
05	27,13	83,33	46,8	01	28,43	68,67	0
06	28,40	80,67	0	02	27,37	71,33	0
07	28,47	80,67	0	03	27,47	65,67	0
08	27,93	83,67	0	04	27,53	64,67	0
09	26,27	88,33	9,6	05	27,77	71,00	0
10	26,33	89,67	72	06	27,93	62,33	0
11	27,50	80,00	0	07	29,00	59,67	0
12	27,73	78,00	0	08	27,60	63,67	0
13	27,07	78,00	0,2	09	27,50	61,33	0
14	26,93	78,00	0	10	26,80	64,67	0
15	27,47	78,00	0	11	27,73	64,67	0
16	28,40	79,33	0	12	27,60	65,67	0
17	28,17	75,67	0	13	27,33	65,33	0
18	27,33	81,67	0	14	26,47	67,00	0
19	27,70	82,33	0,2	15	27,27	63,00	0
20	28,60	76,67	0	16	27,87	65,67	0
21	28,20	75,00	0	17	28,07	65,67	0
22	27,63	80,67	0	18	27,70	71,67	0
23	27,80	78,67	0	19	28,73	67,67	0
24	27,20	84,00	21,1	20	28,37	68,33	0
25	27,47	87,67	0	21	29,00	60,33	0
26/05/2008*	27,93	76,67	0	22/07/2008*	28,97	59,67	0
27	26,53	84,67	13,1	23	28,37	62,67	0
28	27,57	78,33	0,4	24	28,07	58,67	0
29	27,63	74,00	0	25	27,23	66,00	0
30	28,13	74,33	0	26	27,87	71,67	0
31	28,47	74,33	0	27	27,83	70,67	0
01	27,53	72,67	6,2	28	28,20	58,67	0
02/06/2008	27,13	71,00	0	29/07/2008	30,90	59,67	0
T média = 27,59°C				T média = 27,95°C			
UR média = 81,34%				UR média = 66,70%			
Precipitação total: 361,7mm				Precipitação total: 0,3mm			

*Data da inoculação

Fonte: Embrapa-CNPMPN-2008

Cada experimento foi realizado simultaneamente em plantas e em folhas destacadas de plantas de feijão-fava, das subamostras UFPI - 578, UFPI - 468 e UFPI - 26 denominadas G1, G2 e G3 respectivamente, oriundas do Banco Ativo de Germoplasma de Feijão-Fava da UFPI (Figura 3). Essas subamostras foram selecionadas por serem bastante cultivadas nos Estados do Piauí e Maranhão. A Tabela 2 apresenta o nome comum, local de coleta, hábito de crescimento e cor das sementes referentes a essas subamostras.



Figura 3. Genótipos de feijão-fava avaliados. Teresina-PI, 2008.

Tabela 2. Genótipo, subamostra, nome comum, local de coleta, hábito de crescimento e cor da semente do feijão-fava utilizado nos experimentos. Teresina-PI, 2008.

Genótipo	Subamostra	Nome comum	Local de coleta	Hábito de crescimento	Cor da semente
G1	UFPI - 578	Boca de moça	Barra do Corda - MA	Indeterminado	Branca com hilo rajado
G2	UFPI - 468	Fava miudinha	São Domingos - MA	Indeterminado	Creme
G3	UFPI - 26	Fígado de galinha	Várzea Grande - PI	Indeterminado	Marrom claro

Plantas das três subamostras foram cultivadas em telado, em vasos contendo 4kg de terra adubada de acordo com a análise do solo e recomendação de adubação para o feijoeiro (UFC, 1993), deixando-se uma planta/vaso após desbaste. Durante o experimento conduzido no período chuvoso (época 1) as plantas não foram irrigadas enquanto na época 2 (sem chuva) foram irrigadas manualmente.

Cada subamostra foi representada por dezesseis plantas e por dezesseis folhas trifolioladas destacadas dessas mesmas plantas, as quais foram inoculadas com os três isolados de *C. truncatum* (CT1, CT2 e CT3) na concentração de $1,6 \times 10^6$ conídios mL⁻¹ (quatro plantas ou quatro folhas destacadas/isolado) e com solução Tween 80 na concentração de 0,1% no caso das testemunhas (quatro testemunhas).

As técnicas de preparo da suspensão de conídios, inoculação e, retirada e acondicionamento das folhas nas placas de Petri foram às mesmas empregadas na avaliação da patogenicidade dos isolados de *C. truncatum*. A inoculação foi realizada aos 40 dias após a semeadura e, para a avaliação do comportamento das subamostras aos isolados do fungo aplicou-se também a mesma escala de notas aos cinco e sete dias após a inoculação.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições para cada subamostra avaliada. No ensaio em telado cada repetição foi constituída de uma planta com duas folhas inoculadas, obtendo-se a média das notas atribuídas, enquanto em folhas destacadas foi representada por uma folha trifoliolada. Os dados das épocas 1 e 2 foram submetidos à análise de variância separadamente, no esquema fatorial 3 x 3 + 1 (três genótipos, três isolados e uma testemunha) ou de forma conjunta em fatorial 3 x 3 x 2 (três genótipos, três isolados, duas épocas), empregando-se o programa SAS (1993). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls, a 5% de probabilidade e para as médias da testemunha com as dos demais tratamentos foi realizada pelo teste de Dunnett. Foi feita a análise de correlação de Pearson entre os dados das variáveis folhas destacadas e plantas aos cinco e sete dias após as inoculações realizadas em cada época.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização do agente causal da antracnose do feijão-fava

4.1.1. Caracterização morfológica e cultural de *Colletotrichum truncatum*

Na caracterização morfológica observou-se que os isolados de *C. truncatum* apresentaram conídios hialinos, unicelulares, forma falcado com ápices afilados e dispostos em acérvulos com setas asseptadas de coloração marrom escuro (Figura 4A). O tamanho dos conídios variou de 18,31–26,63 μm para o comprimento e 2,01–4,06 μm para a largura, observando-se variações entre os isolados (Tabela 3). Os conídios do isolado CT1 apresentaram o menor comprimento (20,99 μm), enquanto os do isolado CT3 a maior largura (3,10 μm).

Tabela 3. Comprimento e largura de conídios de isolados de *Colletotrichum truncatum* do feijão-fava, quando cultivados em meio feijão-dextrose-ágar a 28°C e fotoperíodo de 12 horas, aos 10 dias de incubação. Teresina-Piauí, 2007.

Isolado	Comprimento ¹ (μm)	Amplitude	Largura ¹ (μm)	Amplitude
CT1	20,99 B	18,31 – 23,95	2,72 B	2,01 – 3,54
CT2	23,79 A	20,09 – 26,50	2,86 B	2,14 – 3,75
CT3	23,51 A	20,40 – 26,63	3,10 A	2,25 – 4,06
CV(%)	6,2		13,9	

¹ Média de 50 conídios para cada isolado

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Quanto à morfologia dos apressórios, o formato ovalado foi o predominante nos três isolados. No entanto, foram observados também, apressórios clavados e

irregulares, geralmente produzidos lateralmente em tubos germinativos curtos (Figura 4 B a F). A variabilidade no formato de apressórios de *Colletotrichum* sp. foi documentada também por vários autores (COUTO & MENEZES, 2004; MAFACIOLI et al., 2006; ANDRADE et al., 2007; HARADA et al., 2008; TOMIOKA et al., 2008).

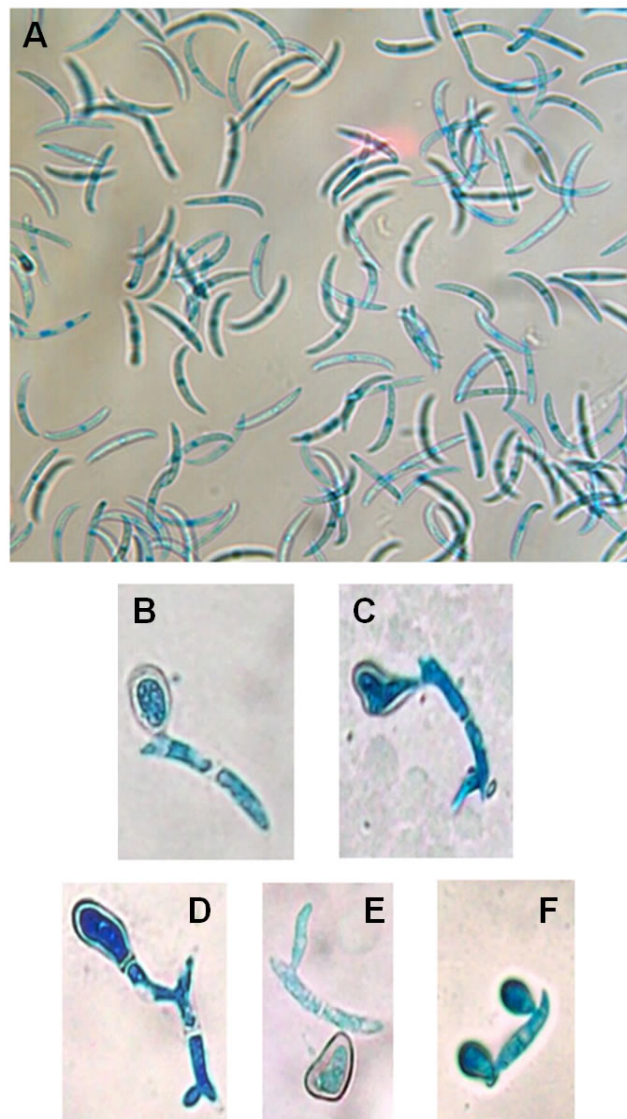


Figura 4. Conídios (A) e apressórios (B a F) de *Colletotrichum truncatum*, agente causal da antracnose do feijão-fava. Teresina-Piauí, 2007.

As características morfológicas dos isolados são compatíveis com as descritas para *C. truncatum* por SUTTON (1980) com exceção da largura dos conídios que foi menor. Em estudos de caracterização morfológica de isolados do gênero *Colletotrichum*, TOZZE JÚNIOR et al. (2006) verificaram que grande parte dos isolados de *C. gloeosporioides* apresentaram largura média dos conídios, inferior ao valor mínimo citado por SUTTON (1992) para essa espécie. Estudando a variabilidade de isolados de *C. truncatum* patogênico de soja, MAYONJO & KAPOORIA (2003) também encontraram consideráveis variações no comprimento (15-31 μm) e largura (2-7,6 μm). Em lentilha, isolados de *C. truncatum* apresentaram variações no tamanho dos conídios (CHONGO et al., 2002).

A coloração e morfologia das colônias dos isolados de *C. truncatum* variaram entre os meios de cultura. Em BDA, apresentaram-se cinza-claro a cinza-esverdeado com reverso preto, micélio aéreo escasso e submerso com formato estrelar, com abundante produção de conídios em massa mucilaginosa de coloração variando de branca leitosa a amarelo pálido. Em FDA, as colônias inicialmente apresentaram micélio aéreo flocoso branco acinzentado nas bordas e cinza escuro no centro e reverso da colônia com pontuações escuras. Progressivamente com a idade da cultura, o micélio cobriu levemente os conídios em massa amarelo pálido a salmão. Diferenças na coloração e morfologia das colônias podem ser devidas à influência das condições de cultivo as quais os isolados foram submetidos (MAYONJO & KAPOORIA, 2003; SERRA et al., 2008).

Comparando-se os efeitos dos meios FDA e BDA nas características culturais dos isolados (Tabela 4) verificou-se que para o CT1, CT2 e CT3 o meio FDA proporcionou maior crescimento e maior formação de apressórios, enquanto o BDA favoreceu maior produção de conídios no CT1, não diferindo do FDA para CT2 e CT3. Quanto à germinação dos conídios o meio BDA proporcionou ao CT2 maior percentual de germinação do que o FDA. Para CT1 e CT3 não houve diferença entre os meios nessa característica.

Tabela 4. Efeito do meio de cultura no diâmetro da colônia, produção de conídios, germinação e formação de apressórios de isolados de *Colletotrichum truncatum* do feijão-fava. Teresina-Piauí, 2008.

Meio de Cultura	Isolado		
	CT1	CT2	CT3
Diâmetro da colônia (cm)			
FDA	6,55A	7,02A	6,85A
BDA	5,59B	5,94B	5,56B
CV(%) = 2,0			
Conídios cm⁻² (x10⁴)			
FDA	4,65B	3,40A	2,59A
BDA	10,07A	4,30A	3,41A
CV(%) = 42,8			
Germinação (%)			
FDA	73,66A	58,78B	60,65A
BDA	73,84A	74,00A	69,10A
CV(%) = 13,7			
Apressórios (%)			
FDA	52,75A	82,60A	32,80A
BDA	11,12B	30,76B	12,61B
CV(%) = 21,8			

Dados originais. Para efeito de análise os dados referentes aos percentuais de germinação e de apressórios foram transformados em arco seno $\sqrt{p/100}$

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna de cada característica cultural, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

FDA = feijão-dextrose-ágar; BDA = batata-dextrose-ágar

O fato do meio FDA proporcionar maior crescimento de *C. truncatum* pode estar relacionado aos elevados teores de proteína e carboidratos do feijão (ANTUNES et al., 1995) e na maior quantidade de amido disponível quando comparado ao existente na batata (TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2008). Segundo TOZZE JÚNIOR et al. (2006), isolados de *C. gloeosporioides* causadores de antracnose em solanáceas apresentaram maior desenvolvimento micelial quando cultivados em meio mínimo acrescido de amido. Para o crescimento e esporulação de isolados obtidos de manga, manitol e maltose foram as melhores fontes de carbono respectivamente (SANGEETHA & RAWAL, 2008).

As características culturais dos isolados CT1, CT2 e CT3 de *C. truncatum*, quando cultivados em meio FDA ou BDA e nas temperaturas de 26, 28 e 30°C, variaram de acordo com as condições de cultivo (Tabelas 5 e 6). Quando cultivados em meio FDA houve diferenças significativas no diâmetro de colônia entre os isolados de acordo com a temperatura de incubação (Tabela 5). Os isolados CT2 e CT3, nas temperaturas de 26 e 28°C, apresentaram o maior diâmetro de colônia, não diferindo entre si, enquanto o CT1 foi o de menor crescimento nas três temperaturas. Comparando-se os isolados quando cultivados em meio BDA observa-se que o diâmetro de colônia também variou em função do isolado e temperatura (Tabela 5). Diferenças significativas entre isolados de *C. musae* em BDA foram constatadas por COUTO & MENEZES (2004). Segundo estes autores a ocorrência de variabilidade entre isolados de uma mesma espécie quando cultivados no mesmo substrato pode estar relacionada com a presença de raças fisiológicas. De acordo com NECHET et al. (2004) a identificação da(s) raça (s) predominante na região é importante para direcionar programa de seleção de genótipos resistentes.

Comparando-se os isolados em relação à produção de conídios (Tabela 5), não se observaram diferenças significativas entre os isolados quando cultivados em FDA nas temperaturas de 26, 28 e 30°C. Para os isolados CT1 e CT2 a esporulação independe da temperatura de cultivo, enquanto que para o isolado CT3 a produção de conídios foi maior a 26°C ($5,25 \times 10^4$) e menor nas temperaturas de 28°C ($0,82 \times 10^4$) e

30°C ($1,70 \times 10^4$). Em BDA, a maior quantidade de conídios foi produzida pelo isolado CT1 ($13,10 \times 10^4$) e a menor pelo CT2 ($1,27 \times 10^4$), ambos quando cultivados na temperatura de 30°C.

Tabela 5. Diâmetro de colônia e produção de conídios de isolados de *Colletotrichum truncatum* do feijão-fava, quando cultivados em meio feijão-dextrose-ágar ou batata-dextrose-ágar em diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas. Teresina-Piauí, 2008.

Isolado	Meio de Cultura / Temperatura (°C)					
	Feijão-dextrose-ágar			Batata-dextrose-ágar		
	26	28	30	26	28	30
Diâmetro de colônia (cm)						
CT1	6,07Bb	6,87Ba	6,72Ba	5,57Ba	5,62Ba	5,57Aa
CT2	6,32Ab	7,42Aa	7,32Aa	5,97Ab	6,30Aa	5,55ABc
CT3	6,45Ac	7,30Aa	6,82Bb	5,77ABa	5,57Ba	5,35Bb
CV(%) = 2,0						
Conídios cm⁻² (x10⁴)						
CT1	5,15Aa	4,05Aa	4,75Aa	9,40Ab	7,72Ab	13,10Aa
CT2	4,15Aa	1,92Aa	4,15Aa	5,72Ba	5,92ABa	1,27Bb
CT3	5,25Aa	0,82Ab	1,70Ab	3,85Ba	3,10Ba	3,30Ba
CV(%) = 42,8						

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna de cada característica cultural e minúscula na linha de cada meio de cultura, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando-se os dados de crescimento micelial e produção de conídios, constatou-se correlação negativa entre estas características, $r = -0,37$, indicando que isolados com menor diâmetro de colônia produziram maior quantidade de esporos. O CT1 comportou-se dessa forma quando cultivado em FDA e incubado em temperaturas

de 26, 28 e 30°C (Tabela 5). Este resultado também foi observado para isolados de *C. gloeosporioides* obtidos de mangueira (ASSIS et al., 2001) e pupunheira (MAFACIOLI et al., 2008) e isolado Isso-15 de *C. musae* (COUTO & MENEZES, 2004). 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.

A germinação de conídios de isolados de *C. truncatum* obtidos de feijão-fava depende da temperatura quando cultivados em meio FDA (Tabela 6). A 26°C os isolados não diferiram entre si. A 28°C, CT3 apresentou maior germinação (93,17%) e na temperatura de 30°C os conídios do isolado CT1 germinaram mais (86,64%) do que os conídios dos isolados CT2 e CT3. Quando os isolados CT1, CT2 e CT3 foram cultivados em BDA verificou-se que esta característica não foi influenciada pela temperatura de cultivo.

Quanto à formação de apressórios (Tabela 6), o isolado CT2 produziu o maior percentual de apressórios entre os três isolados quando cultivados em FDA e incubados nas temperaturas de 26°C (89,22%) e 28°C (75,97%). Em BDA, não houve diferença entre isolados quando cultivados na temperatura de 26°C, enquanto na temperatura de 28°C ocorreu a maior formação de apressórios (47,29%). Em ambos os meios, na temperatura de 30°C e com 6 horas de incubação, os isolados de *C. truncatum* não formaram apressórios. Provavelmente esta temperatura retardou a formação dos apressórios uma vez que foram observados muitos esporos germinados, apresentando dilatações nas extremidades dos tubos germinativos, sugerindo que os apressórios estavam em processo de formação. De acordo com ESTRADA et al. (2000) nas temperaturas de 20, 25 e 30°C a formação de apressórios teve início após 12 horas de incubação.

Diferenças na germinação de conídios e formação de apressórios em decorrência de variações de condições de cultivo e da espécie encontram-se documentadas em vários trabalhos. COUTO & MENEZES (2004) encontraram diferenças significativas no percentual de germinação de conídios entre isolados de *C.*

musae. SOARES et al. (2008), ao avaliarem o processo de infecção de goiabas por *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, não constataram germinação de conídios a 40°C. ESTRADA et al. (2000) citaram que as temperaturas que mais estimularam a formação de apressórios pelos isolados I-2 e I-4 de *C. gloeosporioides* foram 25 e 20°C respectivamente.

Tabela 6. Germinação de conídios e formação de apressórios de isolados de *Colletotrichum truncatum* do feijão-fava, quando cultivados em meio feijão-dextrose-água ou batata-dextrose-água em diferentes temperaturas e fotoperíodo de 12 horas. Teresina-Piauí, 2008.

Isolado	Meio de Cultura / Temperatura (°C)					
	Feijão-dextrose-água			Batata-dextrose-água		
	26	28	30	26	28	30
Germinação (%)						
CT1	53,78Ab	80,57ABa	86,64Aa	75,05Aa	70,02Aa	76,45Aa
CT2	55,33Aab	62,22Ba	37,37Bb	70,53Aa	77,46Aa	71,96Aa
CT3	44,58Ab	93,17Aa	44,20Bb	74,45Aa	56,55Aa	76,28Aa
CV(%) = 13,7						
Apressório (%)						
CT1	51,25Ba	54,25Ba	Nfa	7,18Aa	15,06Ba	Nfa
CT2	89,22Aa	75,97Aa	Nfa	14,23Ab	47,29Aa	Nfa
CT3	42,50Ba	23,11Cb	Nfa	5,32Ab	19,91Ba	Nfa
CV(%) = 21,8						

Nfa = Não formou apressórios. Dados originais. Para efeito de análise os dados foram transformados em arco seno $\sqrt{p/100}$

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna de cada característica cultural e minúscula na linha de cada meio de cultura, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.1.2. Avaliação da patogenicidade dos isolados de *Colletotrichum truncatum*

No teste de patogenicidade, os primeiros sintomas apareceram aos três dias após a inoculação (DAI). Foram observadas nas folhas das plantas e nas folhas destacadas, lesões avermelhadas predominantemente localizadas nas nervuras. Posteriormente, com o avanço da doença verificou-se queda de folhas ou de um ou mais folíolos.

Com relação ao estudo dos fatores isolados de *C. truncatum* e concentrações de conídios, não houve interação ($P>0,05$) para as variáveis estudadas (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7. Patogenicidade de isolados de *Colletotrichum truncatum* do feijão-fava, quando avaliados em folha destacada e na planta aos sete dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008.

Variável	Testemunha ¹	Concentração	Isolados			Média ²	CV (%)
			CT1	CT2	CT3		
FD (nota) ³	0,00*	C1	4,20*	2,80*	3,80*	3,60b	27,0
		C2	4,80*	5,00*	4,40*	4,73a	
		Média²	4,50a	3,90a	4,10a		
Planta (nota) ³	0,00*	C1	2,30*	1,30*	2,50*	2,03b	35,4
		C2	4,00*	4,10*	3,10*	3,72a	
		Média²	3,15a	2,70a	2,80a		

FD = Folha destacada

C1=10⁴ conídios mL⁻¹; C2=10⁶ conídios mL⁻¹

¹ Médias, seguidas de asterisco, para uma mesma variável, diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($P<0,05$).

² Médias, seguidas de letras diferentes, para uma mesma variável, na linha ou na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

³ Nível de infecção avaliado através de escala de notas.

Quanto à patogenicidade não foram verificadas diferenças entre os isolados CT1, CT2 e CT3 ($P>0,05$) na folha destacada e na planta aos sete DAI (Tabela 7) e 10 DAI

(Tabela 8). Quando foi empregada a maior concentração (C2) houve efeito para todas as variáveis ($P < 0,05$).

Constatou-se ainda correlação positiva e significativa ($P < 0,0001$) na patogenicidade dos isolados quando inoculados em folha destacada e planta nas avaliações realizadas aos sete ($r = 0,60$) e aos 10 DAI ($r = 0,61$). Estes resultados reforçam a importância da técnica da folha destacada em estudos com fungos fitopatogênicos já constatada em outros trabalhos (MENDES & BERGAMIN FILHO, 1986; RIOS et al., 2001; MAFACIOLI et al., 2006, 2008; SERRA et al., 2008).

Tabela 8. Patogenicidade de isolados de *Colletotrichum truncatum* do feijão-fava, quando avaliados em folha destacada e na planta aos 10 dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008.

Variável	Testemunha ¹	Concentração	Isolados			Média ²	CV (%)
			CT1	CT2	CT3		
FD (nota) ³	0,00*	C1	4,40*	3,00*	4,00*	3,80b	20,8
		C2	4,80*	5,00*	4,60*	4,80a	
Média ²			4,60a	4,00a	4,30a		
Planta (nota) ³	0,00*	C1	2,90*	1,50*	2,80*	2,40b	37,6
		C2	4,30*	4,30*	3,30*	3,97a	
Média ²			3,60a	2,90a	3,05a		

FD = Folha destacada

C1=10⁴ conídios mL⁻¹; C2=10⁶ conídios mL⁻¹

¹ Médias, seguidas de asterisco, para uma mesma variável, diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

² Médias, seguidas de letras diferentes, para uma mesma variável, na linha ou na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

³ Nível de infecção avaliado através de escala de notas.

A delimitação de espécies e a precisa caracterização da variabilidade em isolados do gênero *Colletotrichum* é, muitas vezes, difícil em decorrência da grande plasticidade fenotípica apresentada por esse gênero, levando, frequentemente, a resultados conflitantes e difíceis de interpretar (TOZZE JÚNIOR et al., 2006).

4.2. Avaliação da reação de genótipos do feijão-fava a *Colletotrichum truncatum*

Em todos os genótipos, nas épocas 1 e 2, os primeiros sintomas da doença apareceram aos três DAI do fungo em folhas destacadas e plantas, observando-se lesões avermelhadas predominantemente nas nervuras com a ocorrência ou não de queda de folhas ou de um ou mais folíolos (Figura 5).

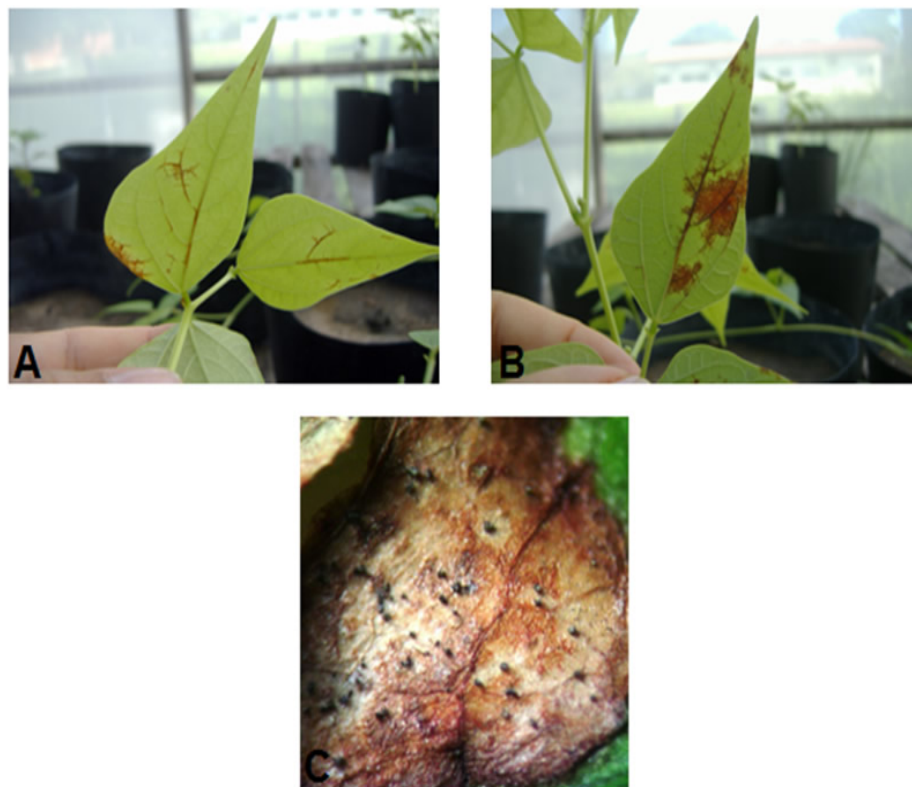


Figura 5. Folhas de feijão-fava (A, B e C) com sintomas característicos de antracnose. Teresina, Piauí, 2008.

O tempo para 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 MÜNCH et

al.(2008) a fase necrotrófica do ciclo do fungo começa entre 48 a 72 horas após a inoculação dependendo das condições ambientais. Em cultivar suscetível de lentilha (*Lens culinaris*) o tempo de aparecimento das lesões variou de 72 a 144 horas e de até 14 dias após a inoculação, em cultivar resistente (CHONGO et al., 2002). Quanto à queda das folhas, uma reação de hipersensibilidade pode ter ocorrido em resposta ao ataque do patógeno à planta (MEDEIROS et al., 2003).

Os resultados do experimento de avaliação do comportamento dos genótipos de feijão-fava a *C. truncatum* conduzido durante o período chuvoso (época 1) encontram-se nas Tabelas 9 e 10.

Analisando-se essas Tabelas constatou-se em folhas destacadas, que os genótipos não apresentaram diferenças significativas no nível de infecção a *C. truncatum* aos cinco DAI (Tabela 9) e aos sete DAI (Tabela 10), sendo portanto, suscetíveis ao fungo. Em plantas, os genótipos foram suscetíveis quando avaliados aos cinco DAI e sete DAI, no entanto, aos cinco DAI houve diferença significativa entre os genótipos G2 e G3 sendo o G3, mais suscetível ao fungo. Quando comparado a G1 não foram constatadas diferenças significativas. Entre os isolados, somente CT1 diferiu de CT2 e CT3 quando avaliados na planta, evidenciando menor agressividade.

Tabela 9. Reação de genótipos do feijão-fava a *Colletotrichum truncatum*, quando avaliados em regime de chuva (época 1) em folha destacada e na planta aos cinco dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008.

Variável	Testemunha ¹	Genótipos	Isolados			Média ²	CV (%)
			CT1	CT2	CT3		
FD 5 DAI (nota) ³	0,0*	G1	4,00*	4,50*	4,50*	4,33 A	25,96
	0,0*	G2	4,25*	4,75*	3,75*	4,25 A	
	0,0*	G3	4,00*	4,25*	4,75*	4,33 A	
Média²			4,08 a	4,50 a	4,33 a		
Teste F (G x I)			0,6967ns				
Planta 5 DAI (nota) ³	0,0*	G1	2,25*	5,00*	4,62*	3,95 AB	28,38
	0,0*	G2	2,12*	4,00*	3,50*	3,20 B	
	0,0*	G3	4,37*	4,62*	4,12*	4,37 A	
Média²			2,91 b	4,54 a	4,08 a		
Teste F (G x I)			0,1421ns				

FD = Folha destacada

¹ Médias, seguidas de asterisco, para uma mesma variável, diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (P<0,05).

² Médias, seguidas de letras diferentes, para uma mesma variável, na linha ou na coluna, diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

³ Níveis de infecção avaliados através de escala de notas.

Tabela 10. Reação de genótipos do feijão-fava a *Colletotrichum truncatum*, quando avaliados em regime de chuva (época 1) em folha destacada e na planta aos sete dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008.

Variável	Testemunha ¹	Genótipos	Isolados			Média ²	CV (%)
			CT1	CT2	CT3		
FD 7 DAI (nota) ³	0,0*	G1	4,75*	4,75*	5,00*	4,83 A	14,69
	0,0*	G2	4,50*	5,00*	4,50*	4,66 A	
	0,0*	G3	4,75*	4,25*	5,00*	4,66 A	
Média²			4,66 a	4,66 a	4,83 a		
Teste F (G x I)			0,4650ns				
Planta 7 DAI (nota) ³	0,0*	G1	2,75*	5,00*	5,00*	4,25 A	21,58
	0,0*	G2	3,37*	4,25*	4,37*	4,00 A	
	0,0*	G3	5,00*	4,75*	4,50*	4,75 A	
Média²			3,70 b	4,66 a	4,62 a		
Teste F (G x I)			0,0539ns				

FD = Folha destacada

¹ Médias, seguidas de asterisco, para uma mesma variável, diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (P<0,05).

² Médias, seguidas de letras diferentes, para uma mesma variável, na linha ou na coluna, diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

³ Níveis de infecção avaliados através de escala de notas.

Os resultados do experimento de avaliação do comportamento dos genótipos de feijão-fava a *C. truncatum* conduzido durante o período de ausência de chuva (época 2) encontram-se nas Tabelas 11 e 12. Observando-se essas Tabelas verificou-se em folhas destacadas que os três genótipos foram suscetíveis ao fungo não diferindo significativamente entre si. Em planta, os genótipos também apresentaram suscetibilidade ao fungo, porém com diferenças significativas entre eles no grau de

suscetibilidade. O genótipo G3 foi o mais suscetível e o G1 o menos suscetível. Entre os isolados, apenas CT2 diferiu dos demais avaliados na planta sete DAI (Tabela 12).

Tabela 11. Reação de genótipos do feijão-fava a *Colletotrichum truncatum*, quando avaliados na ausência de chuva (época 2) em folha destacada e na planta aos cinco dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008.

Variável	Testemunha ¹	Genótipos	Isolados			Média ²	CV (%)
			CT1	CT2	CT3		
FD 5 DAI (nota) ³	0,0*	G1	4,25*	5,00*	4,50*	4,58 A	10,15
	0,0*	G2	5,00*	4,75*	5,00*	4,91 A	
	0,0*	G3	5,00*	5,00*	5,00*	5,00 A	
Média²			4,75 a	4,91 a	4,83 a		
Teste F(Gxl)			0,3289ns				
Planta 5 DAI (nota) ³	0,0*	G1	1,87*	1,50 ^{ns}	2,62*	2,00 C	34,99
	0,0*	G2	3,75*	1,75*	3,62*	3,04 B	
	0,0*	G3	4,00*	4,62*	4,25*	4,29 A	
Média²			3,20 a	2,62 a	3,50 a		
Teste F(Gxl)			0,1514ns				

FD = Folha destacada

¹ Médias, seguidas de asterisco, para uma mesma variável, diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (P<0,05).

² Médias, seguidas de letras diferentes, para uma mesma variável, na linha ou na coluna, diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

³ Níveis de infecção avaliados através de escala de notas.

Em estudos de avaliação da reação de genótipos de maracujazeiro-amarelo ao *C. gloeosporioides*, MARTINS et al. (2008) também não encontraram genótipos resistentes à antracnose embora o teste de comparação de médias tenha revelado diferenças significativas entre eles. Essas diferenças, de acordo com os autores, podem ser devidas a existência de mecanismos de defesa diferentes, presentes na planta.

Tabela 12. Reação de genótipos do feijão-fava a *Colletotrichum truncatum*, quando avaliados na ausência de chuva (época 2) em folha destacada e na planta aos sete dias após inoculação (DAI). Teresina-Piauí, 2008.

Variável	Testemunha ¹	Genótipos	Isolados			Média ²	CV (%)
			CT1	CT2	CT3		
FD 7 DAI (nota) ³	0,0*	G1	4,50*	5,00*	4,75*	4,75 A	8,35
	0,0*	G2	5,00*	4,75*	5,00*	4,91 A	
	0,0*	G3	5,00*	5,00*	5,00*	5,00 A	
Média²			4,83 a	4,91 a	4,91 a		
Teste F(GxI)			0,4685ns				
Planta 7 DAI (nota) ³	0,0*	G1	3,37*	2,50*	4,00*	3,29 C	23,65
	0,0*	G2	4,87*	2,75*	4,75*	4,12 B	
	0,0*	G3	5,00*	5,00*	5,00*	5,00 A	
Média²			4,41 a	3,41 b	4,58 a		
Teste F(GxI)			0,1885ns				

FD = Folha destacada

¹ Médias, seguidas de asterisco, para uma mesma variável, diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (P<0,05).

² Médias, seguidas de letras diferentes, para uma mesma variável, na linha ou na coluna, diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

³ Níveis de infecção avaliados através de escala de notas.

Diferenças na idade das folhas selecionadas para inoculação podem ter contribuído para as divergências de comportamento dos genótipos quando avaliados em folhas destacadas e plantas. As subamostras de feijão-fava avaliadas apresentam hábito de crescimento indeterminado o que dificultou a seleção de folhas com a mesma idade. Em estudos de avaliação de resistência de cultivares de soja a *C. truncatum* em dois estádios fenológicos, COSTA et al. (2006) também constataram diferença de comportamento de cultivares em função da idade da planta. Para todas as cultivares

avaliadas a reação de resistência foi mais acentuada quando o fungo foi inoculado no estágio fenológico V5/V6.

Na literatura, não existem relatos de trabalhos com referência a resistência à antracnose em feijão-fava, no entanto, para outras culturas como a soja e lentilhas existem registros de variabilidade na resistência de genótipos em relação à doença e diversidade genética de isolados de *C. truncatum*. 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. Apesar dos genótipos avaliados terem apresentado suscetibilidade a *C. truncatum* não significa que entre outras subamostras de feijão-fava não existam genótipos resistentes ao fungo como já identificado para outras culturas.

Analisando-se conjuntamente os dados obtidos nas épocas 1 e 2 (Tabelas 13 e 14) constatou-se diferença entre as duas épocas somente quando os genótipos foram avaliados cinco DAI (Tabela 13). Em folha destacada, a média do período chuvoso (época 1) foi menor do que a média do período sem chuva (época 2), enquanto em planta ocorreu o inverso. Comparando-se os genótipos, em folhas destacadas não diferiram entre si, sendo todos suscetíveis aos cinco DAI e sete DAI. Em plantas, G3 foi mais suscetível que G1 e G2 (Tabelas 13 e 14).

A diferença constatada entre as duas épocas demonstra que os fatores climáticos influenciaram no comportamento dos genótipos ao fungo sem contudo revelar diferença entre estes quando avaliados em folha destacada. As doenças do tipo manchas foliares segundo BEDENDO (1995) ocorrem com maior frequência e intensidade em condições de clima quente e úmido. A alta umidade e temperaturas relativamente elevadas (20 - 30°C) segundo este autor, são condições indispensáveis ao desenvolvimento dessas doenças. Observando-se a Tabela 1 constata-se que a essas duas condições foram atendidas durante as duas épocas de avaliação dos genótipos contribuindo para os resultados obtidos.

Tabela 13. Reação de genótipos do feijão-fava a *Colletotrichum truncatum* em folha destacada e na planta aos cinco dias após a inoculação (DAI), em regime de chuva (época 1) e na ausência de chuva (época 2). Teresina-Piauí, 2008.

(época 1) e na ausência de chuva (época 2). Pórcima Plana, 2000.									
Variável	Testemunha¹	Genótipo	Época			/ Isolado			Média Geral Genótipo²
			Época 1			Época 2			
			CT1	CT2	CT3	CT1	CT2	CT3	
FD 5 DAI (nota)³	0,0*	G1	4,00*	4,50*	4,50*	4,25*	5,00*	4,50*	4,50A
	0,0*	G2	4,25*	4,75*	3,75*	5,00*	4,75*	5,00*	4,58A
	0,0*	G3	4,00*	4,25*	4,75*	5,00*	5,00*	5,00*	4,67A
Média Época²			4,30b			4,83a			
Teste F (G x I x E)			0,56 ^{ns}						
CV (%)			18,89						
Planta 5 DAI (nota)³	0,0*	G1	2,25*	5,00*	4,62*	1,87*	1,50 ^{ns}	2,62*	2,97B
	0,0*	G2	2,12*	4,00*	3,50*	3,75*	1,75*	3,62*	3,12B
	0,0*	G3	4,37*	4,62*	4,12*	4,00*	4,62*	4,25*	4,33A
Média Época²			3,84a			3,10b			
Teste F (G x I x E)			0,08 ^{ns}						
CV (%)			31,33						

FD = Folha destacada

¹ Médias seguidas de asterisco para uma mesma variável diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (P<0,05).

² Médias seguidas de letras diferentes para uma mesma variável, na linha ou na coluna, diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

³ Nível de infecção avaliado por meio de escala de notas.

Tabela 14. Reação de genótipos do feijão-fava a *Colletotrichum truncatum* em folha destacada e na planta aos sete dias após a inoculação (DAI), em regime de chuva (época 1) e na ausência de chuva (época 2). Teresina-Piauí, 2008.

(época 1) e na ausência de chuva (época 2). Peresina Pladi, 2000.									
Variável	Testemunha¹	Genótipo	Época /			Isolado			Média Geral Genótipo²
			Época 1			Época 2			
			CT1	CT2	CT3	CT1	CT2	CT3	
FD 7 DAI (nota)³	0,0*	G1	4,75*	4,75*	5,00*	4,50*	5,00*	4,75*	4,79A
	0,0*	G2	4,50*	5,00*	4,50*	5,00*	4,75*	5,00*	4,79A
	0,0*	G3	4,75*	4,25*	5,00*	5,00*	5,00*	5,00*	4,83A
Média Época²			4,72a			4,88a			
Teste F (G x I x E)			0,31 ^{ns}						
CV (%)			11,84						
Planta 7 DAI (nota)³	0,0*	G1	2,75*	5,00*	5,00*	3,37*	2,50*	4,00*	3,77B
	0,0*	G2	3,37*	4,25*	4,37*	4,87*	2,75*	4,75*	4,06B
	0,0*	G3	5,00*	4,75*	4,50*	5,00*	5,00*	5,00*	4,87A
Média Época²			4,33a			4,14a			
Teste F (G x I x E)			0,10 ^{ns}						
CV (%)			22,60						

FD = Folha destacada

¹ Médias seguidas de asterisco para uma mesma variável diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (P<0,05).

² Médias seguidas de letras diferentes para uma mesma variável, na linha ou na coluna, diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

³ Nível de infecção avaliado por meio de escala de notas.

Comparando as médias dos genótipos inoculados com o fungo com as testemunhas (Tabela 13 e 14) constatou-se que o G1, quando inoculado com o isolado CT2 na planta, e avaliado aos cinco DAI, em regime de ausência de chuva (época 2), não diferiu significativamente da testemunha. Para as demais situações todos os genótipos inoculados diferiram do tratamento testemunha. Não foi constatada interação

significativa entre os três fatores (genótipos, isolados e época) para as variáveis folhas destacadas e plantas.

A análise da correlação das notas atribuídas para o nível de infecção em folha destacada e planta revelou a existência de correlação positiva e significativa ($P < 0,0001$) na reação dos genótipos entre estas variáveis quando avaliados na época 1 ($r = 0,75$ para cinco DAI; $r = 0,84$ para sete DAI) e época 2 ($r = 0,73$ para cinco DAI; $r = 0,84$ para sete DAI). Existência de correlação também foi constatada por MENDES & BERGAMIN FILHO (1986) ao quantificar parâmetros epidemiológicos monocíclicos da ferrugem do feijoeiro, em plantas em vasos com aqueles obtidos em folhas destacadas. RIOS et al. (2001), ao avaliarem a resistência de cultivares e linhagens do feijoeiro comum a diferentes populações de *Uromyces appendiculatus*, também encontraram semelhanças nas reações de resistência e suscetibilidade entre folhas destacadas e folhas intactas. O método da folha destacada também apresentou-se eficiente na avaliação da resistência de variedades de soja ao oídio (*Microsphaera diffusa*) e de cultivares de *Vigna angularis* a *Phytophthora vignae* f. sp. *adzukicola* (KAMIKOGA, 2001; HARADA & KONDO, 2009), sendo recomendado em testes de avaliação da resistência a essas doenças. Esses resultados comprovam a importância da técnica da folha destacada em estudos com fungos fitopatogênicos.

5. CONCLUSÕES

- ✓ As características morfológicas e culturais do agente causal da antracnose de feijão-fava, *Colletotrichum truncatum* (Schwein) Andrus and W. D. Moore variam de acordo com o isolado e condições de cultivo, porém são compatíveis com as descritas para a espécie *Colletotrichum truncatum*;
- ✓ Os genótipos UFPI - 578, UFPI - 468 e UFPI - 26 de feijão-fava são suscetíveis a *Colletotrichum truncatum*;
- ✓ Em folha destacada os genótipos não diferem estatisticamente entre si no nível de infecção, independente da época. Em planta e na ausência de chuva, UFPI - 26 apresenta o maior nível de infecção, enquanto UFPI - 578, o menor;
- ✓ A correlação positiva e significativa ($P < 0,0001$) entre folha destacada e planta comprova a viabilidade do emprego da técnica de folhas destacadas em estudos relacionados a essa doença.

6. REFERÊNCIAS

- ALVES, A.U.; OLIVEIRA, A.P.; ALVES, A.U.; DORNELAS, C.S.M.; ALVES, E.U.; CARDOSO, E.A.; OLIVEIRA, A.N.P.; CRUZ, I.S. Lima beans production and economic revenue as function of organic and mineral fertilization. **Horticultura Brasileira**, v.26, n.2, p.251-254, 2008.
- ANDRADE, E.M.; UESUGI, C.H.; UENO, B.; FERREIRA, M.A.S.V. Caracterização morfo cultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.1, p.21-31, 2007.
- ANTUNES, P.L.; BILHALVA, A.B.; ELIAS, M.C; SOARES, G.J.D. Valor nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) cultivares rico 23, carioca, piratã-1 e rosinha-G2. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.1, n.1, p.12- 17, 1995.
- ASSIS, T.C.; MENEZES, M.; ANDRADE, D.E.G.T.; COELHO, R.S.B.; OLIVEIRA, S.M.A. Estudo comparativo de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* quanto ao efeito da nutrição de carboidratos no crescimento, esporulação e patogenicidade em frutos de três variedades de mangueira. **Summa Phytopathologica**, v.27, n.2, p.208-212, 2001.
- AZEVEDO, J.N.; FRANCO, L.J.D.; ARAÚJO, R.O.C. **Composição química de sete variedades de feijão-fava**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2003. (Comunicado Técnico, 152). 4p.
- BEDENDO, I.P. Manchas foliares. In: **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds). 3ª edição, Editora Agronômica Ceres, São Paulo, 1995, p.848-858.

BEYRA, A.; ARTILES, G.R. Revisión taxonômica de los gêneros *Phaseolus* y *Vigna* (Leguminosae - Papilionoideae) em Cuba. **Anales Del Jardín Botânico de Madrid**, v.61, p.135-154, 2004.

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, n.1, p.30-36, 2008.

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.

CHONGO, G.; GOSSEN, 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.

CIAT. Diversidad genetica de las especies cultivadas del genero *Phaseolus*. Cali, 1980. 52p.

COSTA, A.F. Antracnose da fava (*Phaseolus lunatus* L.) no nordeste causada por *Colletotrichum dematium* f. *truncata*. **Fitopatologia Brasileira**, v.11 (Suplemento), p.315, 1986.

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, n.6, p.1684-1688, 2006.

COUTO, E.F.; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p.406-412, 2004.

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

DAVEY, J.F.; GREGORY, N.F.; MULROONEY, R.P.; EVANS, T.A.; CARROLL, R.B. First report of mefenoxam-resistant isolates of *Phytophthora capsici* from lima bean pods in the mid-atlantic region. **Plant Disease**, v.92, n.4, p.656, 2008.

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 mid-atlantic 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.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro de Pesquisa Agropecuária do Meio Norte, área de Irrigação e Drenagem, 2008.

ESTAT. Sistema para análises estatísticas (V. 2.0). Departamento de Ciências Exatas, FCAV-UNESP, Jaboticabal, SP, 1994.

ESTRADA, A.B.; DODD, J.C.; JEFFRIES, P. Effect of humidity and temperature on conidial germination and appressorium development of two Philippine isolates of the mango anthracnose pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Pathology**, v.49, p.608-618, 2000.

EVANS, T.A.; DAVIDSON, C.R.; DOMINIAK, J.D.; MULROONEY, R.P.; CARROLL, R.B. Two new races of *Phytophthora phaseoli* from lima bean in Delaware. **Plant Disease**, v.86, n.7, p.813, 2002.

EVANS, T.A.; MULROONEY, R.P.; GREGORY, N.F.; KEE, E. Lima bean downy mildew: impact, etiology, and management strategies for Delaware and the mid-atlantic region, U. S. **Plant Disease**, v.91, n.2, p.128-135, 2007.

FARIA, J.C.; MAXWELL, D.P. Variability in geminivirus isolates associated with *Phaseolus* spp. in Brazil. **Phytopathology**, v.89, n.3, p.262-268, 1999.

FIGUEIREDO, M.B. Doenças fúngicas emergentes em grandes cultivares (Palestra). **Biológico**, São Paulo, v. 63, n. 1-2, p. 29-32, 2001.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa, 2000. 402p.

HARADA, M.; ISHIKAWA, S.; HIBI, T.; WATANABE, K. Anthracnose of *Enkianthus campanulatus* and *Rhynchosia acuminatifolia* caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (new occurrence). **Journal of General Plant Pathology**, v.74, p.341-343, 2008.

HARADA, G.; KONDO, N. Adzuki bean leaf infection by *Phytophthora vignae* f. sp. *adzukicola* and resistance evaluation using detached leaves inoculated with zoospores. **Journal of General Plant Pathology**, v.75, p.52-55, 2009.

IBGE. Banco de dados agregados: pesquisa: produção agrícola municipal, 2007. Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/>>Acesso em 03 de janeiro de 2008.

KAMIKOGA, A.T.M. **Método da folha destacada para avaliar resistência da soja ao oídio**. 2001. 86p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

LYNCH, T.N.; MAROIS, J.J.; WRIGHT, D.L.; HARMON, P.F.; HARMON, C.L.; MILES, M.R.; HARTMAN, G.L. First report of soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* on *Phaseolus* spp in the United States. **Plant Disease**, v.90, n.7, p.970, 2006.

MAFACIOLI, R.; TESSMANN, D.J.; SANTOS, A.F.; VIDA, J.B. Caracterização morfo-fisiológica e patogenicidade de *Colletotrichum gloeosporioides* da pupunheira. **Summa Phytopathologica**, Campinas, v.32, n.2, p.113-117, 2006.

MAFACIOLI, R.; TESSMANN, D.J.; SANTOS, A.F.; VIDA, J.B. Variabilidade patogênica e efeitos de carboidratos no crescimento micelial, esporulação e agressividade de *Colletotrichum gloeosporioides* da pupunheira. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.1, p.18-21, 2008.

MANANDHAR, J.B.; KUNWAR, I.K.; SINGH, T.; HARTMAN, G.L.; SINCLAIR, J.B. Penetration and infection of soybean leaf tissues by *Colletotrichum truncatum* and *Glomerella glycines*. **Phytopathology**, v. 75, p.704-708, 1985.

MAQUET, A.; VEKEMANS, X.; BAUDOIN, J.P. Phylogenetic study on wild allies of lima bean, *Phaseolus lunatus* (Fabaceae), and implications on its origin. **Plant Systematics and Evolution**, v.218, p.43-54, 1999.

MARTINS, I.; PEIXOTO, J.R.; JUNQUEIRA, N.V.T.; MELLO, S.C.M. Reação de genótipos de maracujazeiro-amarelo ao *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n.3, p.639-643, 2008.

MAYONJO, D.M.; KAPOORIA, R.G. Occurrence and variability of *Colletotrichum truncatum* on soybean in Zambia. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, v.33, p.339-341, 2003.

MEDEIROS, L.A.M.; BALARDIN, R.S.; COSTA, I.F.D.; GULARD, C.A.; LENZ, G. Reação de germoplasma crioulo de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Colletotrichum lindemuthianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n.4, p.273-280, 2008.

MEDEIROS, R.B.; FERREIRA, M.A.S.V.; DIANESE, J.C. **Mecanismos de agressão e defesa nas interações planta : patógeno**. Brasília: Ed. UnB, 2003. 289p.

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.

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

MORAES, S.A.; SALGADO, C.L. Utilização da técnica de folhas destacadas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) para inoculações com *Cercospora arachidicola* Hori e *Cercospora personata* (Berk. & Curt.) Ell. & Ev. **Summa Phytopathologica**, v. 8, p.39-55, 1982.

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. (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**, v.17, n.182, p.63-71, 1995.

PHOTITA, W.; TAYLOR, P.W.J.; FORD, R.; HYDE, K.D.; LUMYONG, S. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plant in Thailand. **Fungal Diversity**, v.18, p.117-133, 2005.

PIAUÍ. Secretaria de Planejamento. **Piauí: um estado diferente**. Teresina (PI): 1997, 102p.

RIOS, G.P.; ANTONIO, F.G.; RODRIGUES, F.A. Enraizamento de folhas em vermiculita para estudos de doenças foliares. **Fitopatologia Brasileira**, v.19 (suplemento), p. 268, 1994a.

RIOS, G.P.; BOTELHO, S.A.; SOUZA, C.A.; WATANAKE, M.C. Utilização de folhas enraizada em vermiculita para avaliação de resistência genética do feijoeiro a doenças da parte aérea. **Fitopatologia Brasileira**, v.19 (suplemento), p.315, 1994b.

RIOS, G.P.; COSTA, G.R.; MELO, M.L.B.; PAULA, R.S. Folhas de feijoeiro enraizada em vermiculita para identificação de resistência a diversas populações de *Uromyces appendiculatus*. **Fitopatologia Brasileira**, v.20 (suplemento), p.363, 1995.

RIOS, G.P.; ANDRADE, E.M.; COSTA, J.L.S. Avaliação da resistência de cultivares do feijoeiro comum a diferentes populações de *Uromyces appendiculatus*. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, n.2, p.128-132, 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**, v. 37, n.10, p. 1407-1412, 2002.

SANGEETHA, C.G.; RAWAL, R.D. Nutritional studies of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. The incitant of mango anthracnose. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 4, n.6, p.717-720, 2008.

SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT: user's guide. 2 ed., Cary, NC: SAS INSTITUTE, 1993.1022p.

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.

SERRA, I.M.R.S.; COELHO, R.S.B.; MENEZES, M. Caracterização fisiológica, patogênica e análise isoenzimática de isolados monospóricos e multispóricos de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n.2, p.113-120, 2008.

SLAMINKO, T.L.; MILES, M.R.; FREDERICK, R.D.; BONDE, M.R. New legume hosts of *Phakopsora pachyrhizi* based on greenhouse evaluations. **Plant Disease**, v.92, n.5, p.767-771, 2008.

SMITH, J.E.; KORSTEN, L.; AVELING, T.A.S. Infection process of *Colletotrichum dematium* on cowpea stems. **Mycological Research**, v.103, n.2, p.230-234, 1999.

SOARES, A.R.; LOURENÇO, S.A.; AMORIM, L. Infecção de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento. **Tropical Plant Pathology**, v.33, n.4, p.265-272, 2008.

SUTTON, B.C. **The Coelomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696p.

SUTTON, B.C. Genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey, J.A.; Jeger, M.J. (Editores). ***Colletotrichum: biology, pathology and control***. Oxon: Cab International, 1992. p.1-26.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2008. Disponível em <http://www.fcf.usp.br/tabela/index.asp> >Acesso 28/12/2008.

THAN, P.P.; JEEWON, R.; HYDE, K.D.; PONGSUPASAMIT, S.; MONGKOLPORN, O.; TAYLOR, P.W.J. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. **Plant Pathology**, v.57, p.562-572, 2008.

TOIT, E.A du., RAUTENBACH, M. A sensitive standardised micro-gel well diffusion assay for the determination of antimicrobial activity. **Journal of Microbiological Methods**, v.42, n.2, p.159-165, 2000.

TOMIOKA, K.; MORIWAKI, J.; SATO, T. Anthracnose of *Polygonatum falcatum* caused by *Colletotrichum dematium*. **Journal General Pathology**, v. 74, n.5, p. 402-404, 2008.

TOZZE JÚNIOR, H.; MELLO, M.B.A. & MASSOLA JÚNIOR, N.S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n.1, p. 71-79, 2006.

TULLU, A.; BUCHWALDT, L.; LULSDORF, M.; BANNIZA, S.; BARLOW, B.; SLINKARD, A.E.; SARKER, A.; TAR'NA, B.; WARKENTIN, T.; VANDENBERG, A. Sources of resistance to anthracnose (*Colletotrichum truncatum*) in wild Lens species. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 53, p.111-119, 2006.

UFC. **Recomendações de adubação e calagem para o estado do Ceará**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1993. 248p.

VALE, F.X.R.; COSTA, H.; ZAMBOLIM, L. Feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) Controle de doenças: doenças de parte aérea causada por fungos. In: Vale, F.X.R.; Zambolim, L (Editores). **Controle de doenças de plantas**. Viçosa, MG: UFV, Departamento de Fitopatologia; Brasília, DF: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, v.1, p.335-374, 1997.

VIEIRA, R.F. A cultura do feijão-fava. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.16, n.174, p.30-37,1992.

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, n.6, p.841-850,1992.

VILLANUEVA-ARCE, R.; YÁÑEZ-MORALES, M.J.; HERNÁNDEZ-ANGUIANO, A.M. Especies de *Colletotrichum* en chirimoya (*Annona cherimola* Mill.). **Agrociência**, v. 42, n.6, p.689-701, 2008.

XAVIER-FILHO, J. Estudos Bioquímicos desenvolvidos com caupi. In: ARAÚJO, J. P.P.; WATT, E.E. (Eds). **O caupi no Brasil**. EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão-CNPAP. Brasília – DF, 1988. p.677-693.