

EFEITO DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5 NA
RESISTÊNCIA DE LINHAGENS DE FEIJÃO-VAGEM À
ANTRACNOSE CAUSADA POR *Colletotrichum lindemuthianum*

ANA LUIZA DA SILVA PEREIRA VAZ

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO-UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO, 2025

EFEITO DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5 NA
RESISTÊNCIA DE LINHAGENS DE FEIJÃO-VAGEM À
ANTRACNOSE CAUSADA POR *Colletotrichum lindemuthianum*

ANA LUIZA DA SILVA PEREIRA VAZ

Dissertação a ser apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.

Orientador: Prof. Geraldo de Amaral Gravina

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO, 2025

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

V393

Vaz, Ana Luiza da Silva Pereira.

Efeito de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5 na resistência de linhagens de feijão-vagem à antracnose causada por *Colletotrichum lindemuthianum* / Ana Luiza da Silva Pereira Vaz. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2025.

58 f. : il.

Bibliografia: 33 - 43.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2025.
Orientador: Geraldo de Amaral Gravina.

1. Resistência . 2. Patógeno. 3. *Phaseolus vulgaris* L. 4. Severidade . I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

EFEITO DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5 NA
RESISTÊNCIA DE LINHAGENS DE FEIJÃO-VAGEM À
ANTRACNOSE CAUSADA POR *Colletotrichum lindemuthianum*

ANA LUIZA DA SILVA PEREIRA VAZ

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.”

Aprovada em 28 de fevereiro de 2025

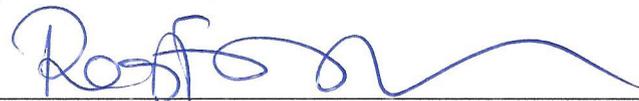
Comissão examinadora:

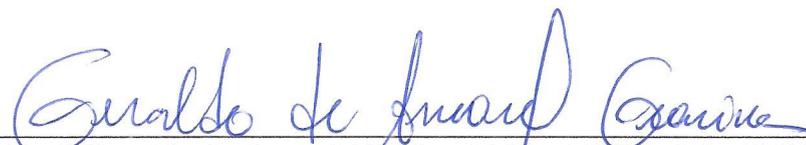


Documento assinado digitalmente
JOSIMAR NOGUEIRA BATISTA
Data: 22/05/2025 11:10:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Josimar Nogueira Batista (D.Sc., Produção Vegetal) - UFRRJ


Dr.^a Janiele Maganha Silva Vivas (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF


Prof. Rogério Figueiredo Daher (D.Sc., Produção Vegetal) - ENF


Prof. Geraldo de Amaral Gravina (D.Sc., Fitotecnia) - UENF
(Orientador)

*“De tudo ficaram três coisas...
A certeza de que estamos começando...
A certeza de que é preciso continuar...
A certeza de que podemos ser interrompidos antes de
terminar...
Fazemos da interrupção um caminho novo...
Da queda, um passo de dança...
Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte...
Da procura, um encontro!”*

(Fernando Sabino).

DEDICATÓRIA

À minha amada avó Marcelina Fialho Vaz, que descansa ao lado de Deus;

À minha madrinha Maria das Graças Fialho Vaz;

Ao meu pai Luiz Antônio Fialho Vaz;

A toda minha família,

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre cuidou e cuida sempre de mim, me colocando no caminho correto a seguir;

Ao meu orientador Geraldo de Amaral Gravina pela oportunidade em cursar o mestrado, pelo conhecimento compartilhado e por todo apoio durante a minha jornada acadêmica.

À minha madrinha Maria Vaz, por sempre estar ao meu lado me apoiando, acreditando no meu potencial e me fazendo enxergar a minha capacidade. Por ser como uma mãe pra mim e nunca me deixar desistir dos meus objetivos. Não consigo descrever em palavras o quanto sou grata e o quanto eu amo a senhora, obrigada por tudo!

Ao meu pai que desde sempre me ensinou sobre o amor e que sempre me apoiou.

Ao Miguelzinho que nunca deixou de acreditar no meu potencial e que sempre me deu conselhos valiosos para o meu futuro e que, além disso, sempre me acolheu como uma filha.

À minha querida irmã Letícia, que sempre me apoiou e esteve comigo em momentos difíceis do processo. Amo você.

À Silvana, pelos conselhos e conversas inspiradoras.

Ao meu namorado José Rilion, pela parceria e companheirismo em todos os momentos, me sinto grata por você ser um parceiro tão fiel, divertido, carinhoso e amoroso. A vida é boa demais com você, obrigada meu amor. Amo você.

À minha amiga Letícia Casseano e ao meu amigo Geferson Rocha pela parceria de sempre, pelos momentos de risadas e conselhos. Agradeço também por me presentarem com a sobrinha mais fofoa que alguém poderia ter, a Alana é uma luz em nossas vidas, sou muito grata por fazer parte da vida de vocês.

À minha amiga Lilia Gravina pelas boas conversas e apoio de sempre, principalmente nos momentos mais difíceis.

À Janieli Maganha Silva Vivas e Derivaldo Pureza pelos ensinamentos compartilhados e apoio durante meus experimentos.

Ao professor Marcelo Vivas pelo apoio nos experimentos e interpretação de dados.

Ao meu grupo de pesquisa pela união e apoio prestado durante a execução dos experimentos.

Aos meus amigos Carlinhos e Dalila pelo apoio de sempre e pelos momentos de boas risadas. Amo muito vocês meus queridos.

À aluna de pós-graduação Gabriela Petroceli, que gentilmente forneceu a bactéria utilizada no presente estudo.

Ao programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade e principalmente pela infraestrutura e conhecimentos oferecidos.

Ao secretário do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas José Daniel, pelo seu excelente trabalho e amizade.

Ao Vicente, técnico da Clínica Fitopatológica da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro por sua disponibilidade em sempre colaborar com os trabalhos.

Às agências de fomento, em especial a Capes e ao CNPq pelas bolsas concedidas para execução do trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----|
| RESUMO | x |
| ABSTRACT | xii |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. OBJETIVOS | 3 |
| 2.1. Objetivo geral | 3 |
| 2.2. Objetivos específicos..... | 3 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA | 4 |
| 3.1. A cultura do feijão-vagem e sua origem..... | 4 |
| 3.2. Importância econômica do feijão-vagem..... | 5 |
| 3.3. Antracnose no feijoeiro: etiologia e controle..... | 6 |
| 3.4. Controle biológico..... | 8 |
| 3.5. Indução de resistência..... | 9 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 13 |
| 4.1. Material genético..... | 13 |
| 4.2. Caracterização de <i>colletotrichum lindemuthianum</i> em diferentes meio de cultura..... | 15 |
| 4.3. Seleção de linhagens resistentes ao isolado de <i>C. lindemuthianum</i> | 16 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 20 |
| 5. 1 Meios de cultura do <i>C. Lindemunthianum</i> | 20 |
| 5. 2 Seleção de linhagens e comparação de escalas..... | 25 |
| 5.3. Inoculação com <i>G. Diazotrophicus</i> | 29 |
| 6. CONCLUSÃO | 32 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 33 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Escala diagramática de avaliação de Antracnose em feijoeiro. Fonte: adaptada de Godoy et al. (1997).....18
- Figura 2:** Fotografia das colônias formadas nos diferentes meios de cultura, aos 15 dias de cultivo.....21
- Figura 3:** Estrutura de seta característica de *Colletotrichum lindemuthianum*, fotografadas a partir do microscópio Moticam 2500 5.0 Pixel USB2. 0, nos meios de cultura Mathur e Vagem-ágar aos 15 dias de cultivo.....24
- Figura 4:** Conídios de *C. lindemuthianum* fotografados a partir da colônia obtida no meio de cultura Mathur (A) e em Vagem-ágar (B), aos 15 dias de cultivo.....24
- Figura 5:** Lesões de antracnose presentes na área foliar e no talo da linhagem L-22, pertencente ao Grupo B (A). Lesão de antracnose presente no caule herbáceo da linhagem L-22, pertencente ao Grupo B (B). Ausência de sintomas de Antracnose na linhagem L-19, pertencente ao Grupo D (C).....27

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|--------------------------------------|
| Tabela 1: Descrição dos genótipos cedidos para o trabalho, pertencentes ao banco de germoplasma de feijão-vagem do programa de melhoramento de feijões especiais da UENF, 2023- Laboratório de Engenharia Agrícola..... | 14 |
| Tabela 2: Escala Descritiva de avaliação da severidade de Antracnose em feijoeiro, proposta por Pastor Corrales e Tu, (1989)..... | 17 |
| Tabela 3: Características morfológicas das colônias formadas nos diferentes meios de cultura do Teste de Esporulação..... | 20 |
| Tabela 4: Média dos diâmetros das repetições das colônias formadas e média dos números de conídios produzidos nos diferentes meios de cultura, avaliados no experimento de caracterização de <i>C. lindemuthianum</i> | Erro! Indicador não definido. |
| Tabela 5: Análise de Variância, gerada a partir da escala de severidade de antracnose, proposta por Pastor Corrales e Tu, (1989)..... | 266 |
| Tabela 6: Grupos gerados pelo método de agrupamento Scott-Knott, gerados a partir da escala proposta por Pastor Corrales e Tu (1989)..... | 26 |
| Tabela 7: Análise de Variância (ANOVA), gerada a partir da escala de severidade de antracnose, proposta por Godoy e colaboradores (1997)..... | 28 |
| Tabela 8: Grupos obtidos pelo Teste Scott-Knott, a partir da avaliação da severidade de antracnose | |

através da escala proposta por Godoy e colaboradores (1997), nas linhagens submetidas ao teste de virulência..... .29

Tabela 9: Linhagens que apresentaram as menores médias, agrupadas pelo Teste de Scott -Knott e suas respectivas médias para produção do número de vagens..... 30

Tabela 10: Análise de Variância (ANOVA), gerada a partir da avaliação de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5 e *Colletotrichum lindemuthianum* nas linhagens de feijão-vagem, descritas no item 4.4.....30

Tabela 11: Análise Fatorial Simples dos diferentes tratamentos analisados a partir da inoculação de *G. diazotrophicus* nas linhagens L6, L10, L23 e L27.....

Erro! Indicador não definido.

RESUMO

VAZ, Ana Luiza Silva Pereira; M.Sc.: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Fevereiro, 2025; Efeito de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5 na resistência de linhagens de feijão-vagem à antracnose causada por *Colletotrichum lindemuthianum*. Orientador: Geraldo de Amaral Gravina; Conselheiros: Marcelo Vivas e Fabio Lopes Olivares.

O feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma hortaliça de grande importância econômica e social, no entanto, doenças que acometem as vagens do feijoeiro podem ocasionar limitação da produtividade e redução da qualidade, impedindo a comercialização das mesmas. A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* é a principal doença encontrada no feijão, sendo responsável por atingir as folhas, os ramos e as vagens da cultura. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de bactérias *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5, na resistência de linhagens de feijão-vagem à antracnose. Para tal, foi utilizado um isolado fúngico (CL04) obtido a partir de vagens contendo sinais da doença, cultivado e armazenado na Clínica Fitopatológica da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, também foram utilizados quarenta e seis genótipos, que se encontravam no Laboratório de Engenharia Agrícola. Para a multiplicação de inóculo e caracterização de *C. lindemuthianum* o isolado fúngico foi cultivado em diferentes meios de cultura (meio Mathur, em vagens de feijão autoclavadas por 20 minutos e imersas em ágar, em meio de feijão fervido com dextrose, meio de feijão fervido sem dextrose, vagens trituradas com dextrose,

vagens trituradas sem dextrose e em BDA). Para a seleção de linhagens resistentes ao fungo foi realizado um experimento em 46 linhagens através da inoculação manual de uma suspensão de 10^6 esp/mL do isolado em plantas de feijão-vagem no estádio fenológico V3, o experimento foi realizado em condições controladas, na Clínica Fitopatológica da UENF. A severidade da antracnose nas plantas foi avaliada através da utilização de duas escalas, sendo uma descritiva e a outra escala diagramática, descrita por Pastor Corrales e Tu. (1989) e Godoy et al. (1997), respectivamente. As escalas foram comparadas para avaliar qual se adequaria melhor ao presente trabalho. Os resultados das variáveis foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas utilizando-se método de agrupamento de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Para a inoculação da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5, as sementes de cada genótipo foram imersas em uma solução bacteriana com concentração de 10^7 UFC/mL por 30 minutos e a severidade, de antracnose nas plantas foi avaliada através da escala diagramática, que melhor se adequou ao trabalho. Em relação ao teste de esporulação, o meio de cultura que apresentou melhor condição para a esporulação do patógeno foi o de vagens de feijão autoclavadas por 20 minutos e imersas em ágar. A seleção de linhagens resultou em quatro grupos distintos, o grupo que apresentou menores médias da doença, foi representado por 28 genótipos. Destes genótipos resistentes, quatro foram selecionados (L-6, L-10, L-23 e L-27) e testados com a bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL -5, que demonstrou eficiência em estimular a indução de resistência à antracnose nas linhagens testadas sob as condições de cultivo utilizadas. Portanto, as linhagens L-6, L-10, L-23 e L-27 são promissoras para serem utilizadas em programas de melhoramento genético, que visam estudar a resistência de plantas de feijão-vagem à antracnose, aliadas à bactéria *G.diazotrophicus*.

Palavras-chave: Resistência; Patógeno; *Phaseolus vulgaris* L; Severidade.

ABSTRACT

VAZ, Ana Luiza Silva Pereira; M.Sc.: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; February, 2025; Effect of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5 on the resistance of snap bean lines to anthracnose caused by *Colletotrichum lindemuthianum*. Advisor: Geraldo de Amaral Gravina; Committee Members: Marcelo Vivas and Fabio Lopes Olivares.

The snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a vegetable of great economic and social importance. However, diseases that affect bean pods can limit productivity and reduce quality, preventing their commercialization. Anthracnose, caused by the fungus *Colletotrichum lindemuthianum*, is the main disease found in beans, affecting the leaves, stems, and pods of the crop. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the effect of the bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5 on the resistance of snap bean lines to anthracnose. For this purpose, a fungal isolate (CL04) obtained from pods showing symptoms of the disease was cultivated and stored at the Phytopathology Clinic of the Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Forty-six genotypes from the Agricultural Engineering Laboratory were also used. To multiply the inoculum and characterize *C. lindemuthianum*, the fungal isolate was cultured in different media: Mathur medium; in bean pods autoclaved for 20 minutes and immersed in agar; in boiled bean medium with dextrose; in boiled bean medium without dextrose; in ground pods with dextrose; in ground pods without dextrose; and in PDA. To select lines resistant to the fungus, an experiment was conducted on 46 lines through manual

inoculation of a 10^6 spores/mL suspension of the isolate into snap bean plants at the V3 phenological stage. The experiment was carried out under controlled conditions at the UENF Phytopathology Clinic. Anthracnose severity in the plants was assessed using two scales: a descriptive scale and a diagrammatic scale, as described by Pastor-Corrales et al. (1989) and Godoy et al. (1997), respectively. The scales were compared to determine which best suited the study. The variable data were subjected to analysis of variance, and means were compared using the Scott-Knott clustering method at a 5% probability level. For inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5, seeds of each genotype were immersed in a bacterial solution with a concentration of 10^7 CFU/mL for 30 minutes. Anthracnose severity in the plants was then assessed using the diagrammatic scale, which proved to be the most suitable for this study. Regarding the sporulation test, the culture medium that provided the best conditions for pathogen sporulation was the one containing bean pods autoclaved for 20 minutes and immersed in agar. The selection of lines resulted in four distinct groups, with the group showing the lowest disease means comprising 28 genotypes. From these resistant genotypes, four (L-6, L-10, L-23, and L-27) were selected and tested with *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5, which demonstrated efficiency in stimulating resistance induction to anthracnose in the tested lines under the cultivation conditions used. Therefore, lines L-6, L-10, L-23, and L-27 are promising for use in breeding programs aimed at studying snap bean resistance to anthracnose in association with the bacterium *G. diazotrophicus*.

Keywords: Resistance; Pathogen; *Phaseolus vulgaris* L.; Severity.

1. INTRODUÇÃO

O feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris L.*) é uma hortaliça que possui grande relevância econômica e social, sendo amplamente utilizada na indústria alimentícia, além de representar uma fonte de renda para pequenos e grandes agricultores (Cavalcante et al., 2012). As vagens do feijão possuem em sua composição fibras, proteínas, vitaminas, potássio e outros nutrientes que, além de auxiliarem no melhor funcionamento do sistema digestivo, ainda são importantes fontes nutritivas da dieta humana (Peixoto; Cardoso, 2016).

Doenças que acometem o feijão-vagem podem ocasionar limitação na produtividade, perda da qualidade e quando acometem as vagens, especificamente, ocasionam a impossibilidade de comercializá-las, gerando danos econômicos para agricultores. Quando se trata do feijão-vagem podem ocorrer doenças como o Mofo Branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary 1884), Murcha ou Amarelecimento de Fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* J.B. Kendr. & W.C. Snyder 1942), entre outras (Krauser et al., 2009). Entretanto, a principal doença que atinge a cultura é a antracnose, que é causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara 1889, que pertence à classe Deuteromicetos (Figueiredo, 2001). A mesma é responsável por ocasionar queda na produtividade (Padder et al. 2017).

A antracnose é responsável por atingir as folhas, ramos e as vagens dos feijões, causando sintomas de lesões foliares que apresentam coloração mais escura, especialmente na parte abaxial da folha, com isso, geralmente ocorre o

enfraquecimento das folhas e das vagens do feijoeiro (Crispín, 1976). Dado a importância da cultura do feijão-vagem, algumas abordagens são utilizadas para tentar evitar-se o acometimento de doenças na cultura, uma das mais comuns e mais aderidas por agricultores, é utilização de sementes saudáveis ou tratadas previamente. No que tange sementes tratadas, é uma ação preventiva, que consiste basicamente em tratar as sementes, visando eliminar possíveis patógenos, geralmente o tratamento é realizado através de aditivos químicos (Sartorato, 1988).

Apesar da abordagem de utilizar aditivos químicos ser muito comum, a utilização dos mesmos, além de prejudicial à saúde humana, também promove maior custo de produção da cultura do feijoeiro (Cavalcante et al., 2012). Uma alternativa para controlar a Antracnose se dá através do controle biológico, visto que algumas espécies como *Trichoderma harzianum*, *T. strigosum* e *T. theobromicola* já são comprovadamente eficientes no controle da antracnose, reduzindo em mais de 50% a severidade da doença (Pedro et al., 2012).

Além do controle biológico, a indução de resistência através do uso de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCPs), vem se mostrando uma alternativa promissora para o controle de doenças em plantas, pois as mesmas podem produzir fitohormônios. Nesse sentido, a bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5, fonte de estudo do presente trabalho, é um microorganismo benéfico capaz de impulsionar o crescimento vegetal e capaz de se associar com uma ampla variedade de espécies de plantas (Cavalcante e Dobereiner, 1988; Cocking et al., 2006; Saravanan et al., 2006; Saravanan et al. 2008; Luna et al. 2010).

Visto que a indução de resistência pode ser uma abordagem a ser utilizada para evitar os danos gerados pela antracnose e pelo uso de aditivos químicos, é preciso que os programas de melhoramento genético vegetal explorem cada vez mais tal abordagem, para que futuramente seja possível obter plantas resistentes à antracnose e outras doenças que ocasionam perdas significativas na agricultura, sem a utilização de aditivos químicos nocivos para a saúde humana e para o meio ambiente.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5, na resistência de genótipos de feijão-vagem à antracnose.

2.2. Objetivos específicos

- Obter e isolar o fungo *Colletotrichum lindemuthianum*;
- Multiplicação de inóculo e caracterização de *C. lindemuthianum* em diferentes meios de cultura;
- Selecionar linhagens de feijão-vagem do banco de Germoplasma do Laboratório de Engenharia Agrícola que apresentarem resistência ao *C. lindemuthianum*, para que os mesmos sejam inoculados com a bactéria;
- Comparar as escalas de avaliação propostas por Pastor Corrales e Tu, (1989) e Godoy et al. (1997).
- Selecionar os genótipos de feijão-vagem que apresentarem resistência à antracnose, quando inoculados com *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. A cultura do feijão-vagem e sua origem

Tratando-se da origem do feijão-vagem, foram propostas algumas teorias para tentar elucidar a origem do mesmo. Existem três correntes que visam explicar a procedência: a primeira argumenta que a espécie se originou a partir de diversas áreas de domesticação independentes, espalhadas pela América Central e América do Sul. Posteriormente, surgiu uma teoria que afirma que a América do Sul seria o berço da espécie, de onde teria ocorrido uma dispersão para o México e a Guatemala após ocorrer à domesticação da espécie. Por fim, há uma hipótese que coloca a América Central como um ponto de origem único para o feijoeiro. (Silbernagel, 1986; Gepts e Debouck, 1991; Zimmermann e Teixeira, 1996; Nuñez, 1997; Vieira et al., 1999).

Tanto o feijão-vagem quanto o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L) pertencem à família Fabaceae, gênero *Phaseolus* e a espécie *Phaseolus vulgaris* L.. O feijão-vagem é considerado uma espécie diplóide ($2n=2x= 22$) e seus cromossomos são caracterizados por serem mais curtos, quando comparados com outras culturas vegetais (Vieira et al., 1999). Além disso, a cultura se caracteriza por ser predominantemente autógama, ou seja, apresenta baixo percentual de fecundação cruzada (Harlan, 1971; 1975).

A cultura tem o crescimento favorecido em temperaturas entre 18 e 30°C, temperaturas muito baixas podem ocasionar a ausência da germinação das

sementes ou até mesmo gerar uma germinação lenta, ou seja, pode ocorrer uma germinação tardia, quando comparado com plantas de feijoeiro crescendo em temperatura ideal (Silbernagel, 1986; Mariot, 2000). Já em temperaturas muito altas, a cultura do feijão-vagem também pode ser negativamente afetada, assim como em baixas temperaturas, altas temperaturas podem ocasionar alterações nas vagens e queda de produtividade, prejudicando a comercialização das mesmas (Peixoto et al., 2002).

Apesar do feijão comum e o feijão-vagem pertencerem à mesma espécie, as culturas apresentam uma pequena diferença no que tange o fruto, ou seja, as vagens, onde se desenvolvem as sementes (Filgueira, 2003). A diferença se dá devido às vagens e as sementes do feijão-vagem serem colhidas e consumidas quando ainda estão imaturas e o consumo pode se dar de forma industrializada ou até mesmo *in natura* (Peixoto e Cardoso, 2016).

As plantas de feijão-vagem apresentam ampla diversidade entre si, podendo apresentar diferenças no tipo do formato da vagem, na coloração da vagem e no hábito do desenvolvimento da planta, podendo apresentar hábito determinado ou indeterminado. Já no que tange formato da vagem, as plantas podem apresentar duas formas: a “manteiga” e “macarrão”. A primeira se caracteriza por apresentar forma achatada em toda a extensão da vagem. Já a segunda, macarrão, tem como característica a vagem arredondada (Vilhordo et al., 1996; Filgueira, 2003).

Além das diversidades citadas anteriormente, também é possível observar distinções no comprimento entre as vagens do feijão-vagem, e do feijão-comum, que costumam ser mais proeminentes na cultura do feijão-vagem, tal distinção representa uma característica distintiva entre as plantas, quando se trata da cultura do feijão-vagem (Vilhordo et al., 1996; Filgueira, 2003).

3.2. Importância econômica do feijão-vagem

O feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) está entre uma das hortaliças mais consumidas no Brasil, sendo cultivado principalmente por pequenos produtores (Pereira, 2017). Tratando-se de Brasil, a produtividade média do feijão-vagem varia entre 12 e 18 mil toneladas por hectare (Magalhães et al., 2017). De acordo com a Ceasa-Goiás, em 2021, o estado registrou uma produção de aproximadamente

3.119,69 mil toneladas, gerando um valor de comercialização de R\$ 15.885.696,70 (Ceasa-GO, 2021). A produção nacional é conduzida, em sua maioria, por agricultores familiares, que utilizam o sistema de cultivo tutorado (Peixoto e Cardoso, 2016).

O Feijão-Vagem Macarrão, especificamente, ocupou a 41ª posição entre os produtos mais comercializados na CEAGESP em 2017, sendo que as variedades mais vendidas foram Macarrão (99%) e Manteiga (1%). A comercialização descrita ratifica que a preferência da maioria dos consumidores brasileiros recai sobre cultivares de vagens cilíndricas- Macarrão em detrimento de vagens achatadas- Manteiga (Camargo Filho e Camargo, 2017). Além disso, esses autores, afirmam que a hortaliça representa uma fonte significativa de renda para agricultores familiares e apresenta grande potencial para expansão do consumo.

Tais informações evidenciam a capacidade de expansão de mercado para cultura do feijão-vagem, tanto para pequenos quanto para grandes agricultores. No caso dos pequenos agricultores, além da importância do ponto de vista agrônomo, a cultura ainda contribui como forma de sustento e desenvolvimento econômico para os mesmos.

3.3. Antracnose no feijoeiro: etiologia e controle

A Antracnose pode ocasionar perda total nas plantações, principalmente quando ocorre a combinação de três fatores: a escolha de uma planta suscetível, condições climáticas propícias para o desenvolvimento do agente causador da doença e o uso de sementes contaminadas (Vechiato et al., 2001). Quando se trata, especificamente do feijão-vagem, a doença compromete a qualidade das vagens, visto que a mesma proporciona manchas necróticas nas vagens, impossibilitando a comercialização.

A identificação primária do agente causador da antracnose em feijoeiro foi descrita, como *Gloeosporium deutzianum*. Entretanto, atualmente a nomenclatura que é mundialmente empregada para descrever a forma conidial do agente causal de antracnose do feijoeiro é *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus). O mesmo é um fungo pertencente à classe dos Deuteromicetos e a ordem dos Melanconiales (Cardoso e Bergamin Filho, 1978).

Os primeiros indícios de Antracnose no feijoeiro surgem através de lesões foliares, comumente concentradas nas nervuras, inicialmente apresentam uma coloração que varia entre vermelho-alaranjada a púrpura, que posteriormente, se tornam mais escuras. Em casos onde a doença encontra-se mais avançada, é possível observar a manifestação da mesma nos pecíolos da folha, ocasionando o enfraquecimento das plantas e conseqüente dobramento da folha no local da lesão. Nas vagens as lesões são caracterizadas pela presença de cancrios deprimidos, que apresentam formato arredondado e circundado por um anel preto com borda laranja-avermelhada (Paula JR et al., 2004).

A antracnose é amplamente disseminada em áreas onde o feijão é cultivado, especialmente nas regiões Sul e Sudeste, pois são regiões que apresentam condições climáticas favoráveis para que ocorra o melhor desenvolvimento do agente etiológico da doença (Rava et al., 1994; Silva, 2004). É importante ressaltar que a propagação do patógeno ocorre tanto a curtas distâncias, através de respingos de chuva, quanto a longas distâncias, através de sementes infectadas, que representam a maior fonte de inóculo do ponto de vista epidemiológico (Silva, 2004).

A utilização de resistência genética é uma das estratégias que visam controlar a Antracnose, por ser uma técnica economicamente viável e eficaz. Para tal, é necessário que sejam utilizadas sementes com alta qualidade sanitária, além disso, é preciso que seja realizada a remoção de resíduos culturais no solo e que também haja alternância entre as espécies vegetais que serão plantadas em uma mesma área agrícola, ou seja, é crucial que haja uma rotação de culturas (Talamini et al., 2004). No entanto, um dos principais desafios na utilização da resistência genética como método de controle para Antracnose é a significativa variabilidade apresentada pelo patógeno causador da mesma. Tal variabilidade resulta em um grande número de raças do agente causal nas áreas de produção agrícola, dificultando a eficácia dessa abordagem (Rava et al., 1994; Carbonell et al., 1999; Talamini et al., 2004).

Ainda como uma tentativa de controle para Antracnose, algumas pesquisas têm evidenciado a eficácia de produtos químicos no combate da mesma em condições de campo. Entre eles, destacam-se fungicidas protetores e sistêmicos, que são utilizados de forma preventiva, ou seja, são aplicados antes que haja detecção dos primeiros sintomas (Sartorato et al., 1994). Entretanto, o uso intensivo

dos mesmos resulta em custos elevados de produção agrícola e impactos ambientais adversos (Itelima et al., 2018).

Portanto, uma alternativa utilizada para controlar a Antracnose é por meio do controle biológico, uma vez que algumas espécies como *Trichoderma harzianum*, *T. strigosum* e *T. theobromicola* já demonstraram eficácia no combate à doença, reduzindo a severidade da mesma em mais de 50% (Pedro et al., 2012). Além das espécies supramencionadas, é relevante destacar que bactérias promotoras do crescimento das plantas também podem contribuir de maneira eficaz para o controle da doença, visto que as mesmas são promissoras para a substituição de fertilizantes minerais, além de contribuírem para o crescimento vegetal e atuarem induzindo a resistência das plantas contra fitopatógenos. (Adesemoye et al., 2009).

3.4. Controle biológico

Historicamente, a sociedade sempre enfrentou diversos obstáculos no que tange a produção de alimentos para suprir a demanda populacional, dentre eles, destaca-se o combate a pragas e doenças. Visando solucionar tais desafios, era comumente utilizada uma grande quantidade de pesticidas, entretanto, os impactos ambientais negativos e a nocividades dos mesmos acarretou em investigações científicas voltadas para o desenvolvimento de técnicas e alternativas seguras que aspiravam combater/reduzir o uso de pesticidas (Halfeld-Vieira et al., 2016)

Uma das alternativas comumente utilizadas para reduzir o uso de pesticidas, é o controle biológico. O conceito da técnica refere-se ao uso de emuladores naturais presentes no ambiente, os mesmos possuem a função de eliminar ou reduzir a população de agentes patogênicos que causam perdas na produção agrícola, evitando prejuízos econômicos para pequenos e grandes produtores. O controle biológico, quando comparado com o uso de pesticidas químicos, apresenta como a principal vantagem causar menos impacto ambiental, além de ser menos nocivo à saúde humana (Graminha et. al., 2001; Mota et. al., 2003).

Na atualidade, o termo biocontrole é muito disseminado mundialmente (Alves et al., 2008). Quando se trata do termo controle biológico, é importante ressaltar que existem alguns microrganismos que apresentam alto potencial como

bioprodutos, dentre eles, destacam-se as bactérias e os fungos. Tratando-se de plantas, a bactéria *Bacillus subtilis* e a espécie do fungo *Trichoderma* são amplamente empregadas na agricultura em todo mundo, pois concedem respostas promissoras para doenças.

A técnica do controle biológico pode ser facilmente confundida com indução de resistência, visto que ambas podem recorrer à utilização de microrganismos para combater as doenças fitopatológicas. Entretanto, no contexto das doenças de plantas, o controle biológico é geralmente descrito como a supressão direta ou indireta da doença, ou do patógeno responsável por ela, por meio da ação de um organismo antagonista ou de um grupo de organismos (Cook e Baker, 1983). O organismo benéfico envolvido nesse processo é chamado de agente de controle biológico (Jensen et al., 2016; Tronsmo et al., 2020).

Os agentes de controle biológico podem exercer sua ação por meio de antibiose, competição, parasitismo, entre outras relações ecológicas (Medeiros et al., 2018). A antibiose é um mecanismo no qual o organismo antagonista sintetiza compostos antimicrobianos, sendo considerada uma das estratégias mais eficazes na competição intraespecífica entre microrganismos (Raaijmakers e Mazzola, 2012).

No mecanismo de competição, o agente de controle biológico se desenvolve rapidamente sobre a superfície onde está presente, disputando espaço, limitando a área disponível para o crescimento do patógeno. Além disso, compete por nutrientes, absorvendo-os de forma acelerada, impedindo sua disponibilidade para os patógenos (Medeiros et al., 2018). Já no parasitismo, o microrganismo antagonista pode colonizar as estruturas do patógeno por meio da produção de enzimas hidrolíticas, reduzindo o inóculo e, conseqüentemente, diminuindo a severidade da doença, tal processo é denominado hiperparasitismo (Medeiros et al., 2018; Ghorbanpour et al., 2018).

3.5. Indução de resistência

O fenômeno de suscetibilidade da planta está relacionado à superação dos mecanismos de defesa pré-formados, bem como à evasão e inibição das respostas de defesa pós-formadas pelo patógeno. A indução de resistência consiste na ativação antecipada dos mecanismos de defesa por estímulos bióticos ou abióticos

antes da exposição ao agente patogênico. O propósito é impedir ou minimizar a ação do patógeno na evasão ou supressão das defesas da planta, reduzindo os danos provocados pela doença (Van-Loon et al., 1998).

Todos os microrganismos sejam patogênicos ou não, ao colonizarem as plantas em busca de nutrientes, podem evitar ou inibir a resposta de defesa vegetal. Após o início da colonização dos tecidos, a planta precisa decidir entre tolerar a presença do microrganismo, estabelecer uma relação recíproca ou ativar uma resposta de resistência. O reconhecimento de patógenos pode desencadear uma resposta imune intensa, limitando o crescimento microbiano (Thoms et al., 2021).

As plantas possuem distintas formas de defesa, que podem ser classificados como estruturais e bioquímicas, podendo estar presentes antes ou serem ativados após a tentativa de invasão por microrganismos. Formas estruturais atuam como barreiras físicas que dificultam a entrada e a colonização do patógeno. Já os mecanismos bioquímicos envolvem a produção de substâncias capazes de inibir ou mitigar o desenvolvimento do patógeno, criando um ambiente desfavorável para a sobrevivência do mesmo nos tecidos do hospedeiro (Pascholati et al., 2008).

A indução de resistência pode ser considerada um processo natural que ocorre diante das interações entre hospedeiro e patógeno (Stadnik, 2000). A mesma pode ocorrer através de duas formas distintas: resistência sistêmica adquirida (SAR) e resistência sistêmica induzida (ISR), ambas possuem a capacidade de serem ativadas por microrganismos.

A Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) ocorre quando há a liberação de um sinal a partir do local de infecção, desencadeando um processo de necrose, e posteriormente, o sinal é direcionado para outras regiões da planta. Esse processo ativa as respostas de defesa da planta, aumentando a resistência contra futuras agressões. Por outro lado, na Resistência Sistêmica Induzida (RSI), o agente que induz a infecção não causa sintomas como necrose no local da infecção, mas estimula a planta a desenvolver uma proteção sistêmica (Conrath et al., 2015; Camargo, 2018).

A planta reconhece sinais primários emitidos pelo invasor, desencadeando a sinalização hormonal (Van-Loon e Van Strien, 1999). Após esse reconhecimento dos sinais primários emitidos pelo invasor, que são reconhecidos por receptores específicos de padrões moleculares associados à patógenos (PAMPs), danos (DAMPs) ou microrganismos (MAMPs), inicia uma cascata de sinais, levando à

ativação de genes de defesa na planta, e aumento da produção de enzimas essenciais na resposta contra o patógeno (Camargo, 2018).

Mecanismos de resistência são geneticamente controlados e a eficácia depende da ativação no momento adequado e com intensidade apropriada (Vanderplank, 1968; Camargo e Bergamin Filho, 1995; Stadnik, 2000).

3.6. *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5

Bactérias benéficas de vida livre e que auxiliam na promoção do crescimento vegetal são reconhecidas como rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR- Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Kloepper et al., 1989). As mesmas são capazes de promover o crescimento vegetal não apenas através do biocontrole, mas também por intermédio da competição por nutrientes, produção de sideróforos (Buchenauer, 1998), antibióticos (Ellis et al., 1979) ou até mesmo através da geração de compostos voláteis (Voisard et al., 1989).

Bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCPs) podem interagir de formas distintas com as plantas, podendo colonizar o solo ao redor das raízes das plantas, as superfícies das folhas e das raízes, e por fim, podem se estabelecer de forma endofítica na planta, ou seja, se estabelece nos tecidos internos da planta (Lery et al., 2008; Zúñiga et al., 2017). Tais interações permitem com que os microrganismos supramencionados sejam utilizados não apenas para promover o crescimento vegetal, mas também podem ser utilizados como uma fonte alternativa aos fertilizantes minerais (Adesemoye et al., 2009).

Gluconacetobacter diazotrophicus PAL-5 é uma bactéria promotora do crescimento vegetal, endofítica e capaz de fixar nitrogênio. Inicialmente, foi isolada de plantas de cana-de-açúcar (Cavalcante e Döbereiner, 1988), entretanto, tem demonstrado resultados promissores na habilidade em colonizar outras culturas (Reis; Souza et al., 2016). Além disso, estudos já comprovaram a eficiência da mesma em colonizar e promover o crescimento de plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas (Cavalcante e Döbereiner, 1988; Souza et al., 2016).

A promoção do crescimento vegetal proporcionada por *G. diazotrophicus* se dá pela habilidade da mesma em fixar nitrogênio, tornar os nutrientes do solo mais acessíveis através da solubilização e geração de fitohormônios (Cavalcante e

Dobereiner 1988; Intorne et al. 2009 ; Saravanan et al. 2008). A mesma ainda exhibe um potencial antagônico frente a diferentes agentes patogênicos e uma resiliência contra vários tipos de estresses abióticos, como falta de água e alta salinidade (Rodriguez et al. 2019; Leandro et al., 2021a; 2021b; Moreira et al., 2022).

Portanto, *G. diazotrophicus* desempenha um papel significativo no biocontrole de patógenos vegetais. Seu potencial antagônico já foi demonstrado contra diversos organismos de relevância agrícola, incluindo *Colletotrichum falcatum* (Muthukumarasamy et al., 2000), , *Fusarium oxysporum* (Logeshwarn et al., 2011), *X. axonopodis* pv. *vascolorum*, *X. vasicola* pv. *vascolorum* (Oliveira et al., 2018) e *Ralstonia solanacearum* (Rodriguez et al., 2019; Srebot et al., 2021). A eficácia dessa bactéria no controle desses patógenos está associada à produção de enzimas líticas, antibióticos e bacteriocinas. Além disso, interações com *G. diazotrophicus* induzem alterações estruturais, bioquímicas e moleculares nas plantas, reforçando sua atuação na defesa contra infecções (Souza et al., 2016; Rodriguez et al., 2019).

Além disso, a promoção de crescimento gerada por *G. diazotrophicus* já foi observado em diversas culturas, inclusive em plantas monocotiledôneas, como o feijão (De Oliveira et al., 2019). Tais características destacam e reiteram a importância e o potencial do presente microrganismo no setor agrícola e no uso do mesmo visando à indução de resistência a diversos patógenos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material genético

O patógeno CL04 (*Colletotrichum lindemuthianum*) foi obtido a partir da obtenção de vagens apresentando sinais da doença, as mesmas foram conduzidas ao laboratório da Clínica Fitopatológica da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro- UENF para o preparo de lâminas das estruturas reprodutivas e pré-identificação dos gêneros fúngicos presentes, por Microscopia Ótica (MO). Foi constatada a presença do fungo e, posteriormente, foi realizado o isolamento direto pela transferência de propágulos para meio batata-dextrose-ágar (BDA) em placas de Petri, posteriormente o isolado foi submetido a incubação de $25\pm^{\circ}\text{C}$, sob regime de 12 h de fotoperíodo. O isolado cedido foi armazenado pelo método de conservação em água (Castellani, 1939), visando à garantia de um estoque para os estudos do presente trabalho e para a coletânea de fungos da Clínica Fitopatológica. A bactéria *G. diazotrophicus* PAL- 5, foi cedida pelo Laboratório Núcleo de Desenvolvimento de Insumos Biológicos para Agricultura-NUDIBA, localizado na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Foram utilizados também 46 genótipos de feijão (Tabela 1), cedidos pelo Laboratório de Engenharia Agrícola da UENF.

Tabela 1: Descrição dos genótipos cedidos para o trabalho, pertencentes ao banco de Germoplasma de feijão-vagem do Programa de Melhoramento de feijões especiais da UENF, 2023- Laboratório de Engenharia Agrícola.

| Nome | Classe | Tipo | Situação | Origem |
|-------------|--------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| L1 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L4 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L6 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L7 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L8 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L9 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L10 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L11 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L12 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L13 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L16 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L17 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L18 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L19 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L21 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L22 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L23 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L25 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L27 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L28 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L29 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L30 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L31 | Linhagem | Vagem | Banco | UENF |
| L32 | Cultivar comercial | Vagem | Introduzido | Isla Sementes |
| L33 | Cultivar comercial | Vagem | Introduzido | Isla Sementes |
| L34 | Cultivar comercial | Vagem | Introduzido | TOPSEED |
| L35 | Cultivar comercial | Vagem | Introduzido | Hortec Sementes |
| L36 | Cultivar comercial | Vagem | Introduzido | FELTRIN |
| L37 | Cultivar comercial | Vagem | Introduzido | FELTRIN |
| L38 | Cultivar comercial | Vagem | Introduzido | Isla Sementes |

Tabela 1 – Cont.

| Nome | Classe | Tipo | Situação | Origem |
|---------------|--------------------|-------------|-----------------|----------------|
| L39 | Cultivar comercial | Comum | Introduzido | IAC |
| L40 | Cultivar comercial | Comum | Introduzido | Embrapa |
| L41 | Cultivar comercial | Vagem | Introduzido | Isla Sementes |
| L42 | Cultivar comercial | Vagem | Introduzido | Isla Sementes |
| L-43 Blumenau | Linhagem | Vagem | Introduzido | Produtor-SC |
| L44 | Cultivar comercial | Vagem | Introduzido | TOPSEED |
| L45 Carangola | Linhagem | Vagem | Introduzido | Produtor- MG |
| L46 | Cultivar comercial | Comum | Introduzido | IAPAR |
| L47 | Cultivar comercial | Comum | Introduzido | IPR-Uirapuru |
| L48 | Cultivar comercial | Comum | Introduzido | Pingo de Ouro |
| L49 | Cultivar comercial | Comum | Introduzido | BRS- Esplendor |
| L50 | Cultivar comercial | Comum | Introduzido | BRS-FP |
| L51 | Linhagem | Comum | Banco | UENF-201 |
| L52 | Cultivar comercial | Comum | Introduzido | BRS-Esteio |
| L53 | Cultivar comercial | Comum | Introduzido | BR1-Xodó |
| L54 | Cultivar comercial | Comum | Introduzido | Carioca Pérola |

4.2. Caracterização de *Colletotrichum lindemuthianum* em diferentes meio de cultura

Para o cultivo de *C. lindemuthianum* foi avaliada a esporulação do mesmo em meio Mathur (constituído por peptona (2,0 gl⁻¹), dextrose (2,8 gl⁻¹), MgSO₄ (1,73 gl⁻¹), KH₂PO₄ (2,72 gl⁻¹) e ágar (20 gl⁻¹); em meio de cultura de vagens de feijão autoclavadas por 20 minutos e colocadas em placa de Petri contendo 20g de ágar; em meio de feijão (constituído por 20g de ágar, 10g de dextrose e 20g de caldo de feijão fervido por 10 minutos e peneirado); em meio de feijão (constituído por 20g de ágar, e 20g de caldo de feijão fervido por 10 minutos e peneirado); em meio de vagens (constituído por 20g de ágar, 10 g de dextrose e 20g de vagens trituradas por 1 minuto no liquidificador e peneiradas); em meio de vagens (constituído por 20g de ágar e 20g de vagens trituradas por 1 minuto no liquidificador e peneiradas) e em BDA. Em seguida, os meios de cultura foram vertidos para placas de Petri em câmara de fluxo laminar. No centro de cada placa foi inserido um disco de cinco

milímetros de diâmetro do isolado fúngico, posteriormente, as placas de Petri foram incubadas em B.O.D. sob temperaturas de 20°C e regime de luz de 12h de fotoperíodo.

O experimento foi instalado em blocos casualizados, sob arranjo fatorial (7 meios de cultura x 1 isolado) com 6 repetições (placas). Após 15 dias de incubação foi avaliada a produção de conídios nos diferentes meios de cultura. Para tal, foi preparada uma suspensão de 10 mL de água destilada e esterilizada, posteriormente, os conídios foram contados em câmara de Neubauer, fotografados com o auxílio do microscópio Moticam 2500 5.0 Pixel USB2. 0 e as colônias foram caracterizadas de acordo com suas características. Os dados de esporulação dos diferentes meios de cultura foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O meio de cultura que apresentou a maior produção de conídio foi utilizado nas etapas posteriores do presente trabalho.

4.3. Seleção de linhagens resistentes ao isolado de *C. lindemuthianum*

Para realizar a seleção de linhagens resistentes ao isolado de *C. lindemuthianum* foi realizado um experimento utilizando os 46 genótipos (Tabela 1) com três repetições e nove plantas por parcela, na Clínica Fitopatológica da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Previamente ao plantio dos genótipos, foi realizada a preparação inicial do patógeno onde as culturas monospóricas do isolado CL04 que estavam mantidas na B.O.D em placa de Petri contendo BDA na Clínica Fitopatológica, foram transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL de ágar e vagens de feijão autoclavadas por 20 minutos. Os tubos foram incubados a 25°C, sob regime de 12h de fotoperíodo por 14 dias, visando à obtenção dos esporos do patógeno, os mesmos foram utilizados para a preparação da suspensão contendo 10^6 esporos/mL, que foi pulverizada nos genótipos. As plantas foram acondicionadas em câmara com temperatura de 25°C e umidade de 85%, as mesmas foram cultivadas em copos plásticos de 500 mL, contendo substrato Basaplant. Quando as plantas se encontravam em estágio fenológico V3, foi realizada a inoculação do patógeno com o auxílio de um pulverizador manual. Após quinze dias de inoculação as mesmas foram avaliadas com o auxílio das duas escalas de avaliação para severidade propostas por Pastor Corrales e

Tu, (1989) (Tabela 2) e Godoy et al. (1997) (Figura 1), com o objetivo de verificar qual escala se adéqua melhor ao presente trabalho. As linhagens que apresentaram maior resistência ao patógeno foram selecionadas para serem utilizadas no experimento de inoculação com a bactéria *G. diazotrophicus*. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 2: Escala Descritiva de avaliação da severidade de Antracnose em feijoeiro, proposta por Pastor Corrales e Tu, (1989)

| Notas | Descrição |
|--------------|--|
| 1 | Ausência de sintomas. |
| 2 | Até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas perceptíveis apenas na face inferior das folhas. |
| 3 | Maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas. |
| 4 | Até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas perceptíveis em ambas as nervuras afetadas. |
| 5 | Maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas. |
| 6 | Manchas necróticas na maioria das nervuras perceptíveis em ambas às faces das folhas e presença de algumas lesões nos talos, ramos e pecíolos. |
| 7 | Manchas necróticas na maioria das nervuras e em grande parte do tecido mesofílico adjacente que se rompe. Presença de abundantes lesões nos talos, ramos e pecíolos. |
| 8 | Manchas necróticas na quase totalidade das nervuras, ocasionando rupturas, desfolhação e redução do crescimento de plantas. Lesões muito abundantes nos talos, ramos e pecíolos. |
| 9 | Maioria das plantas mortas. |

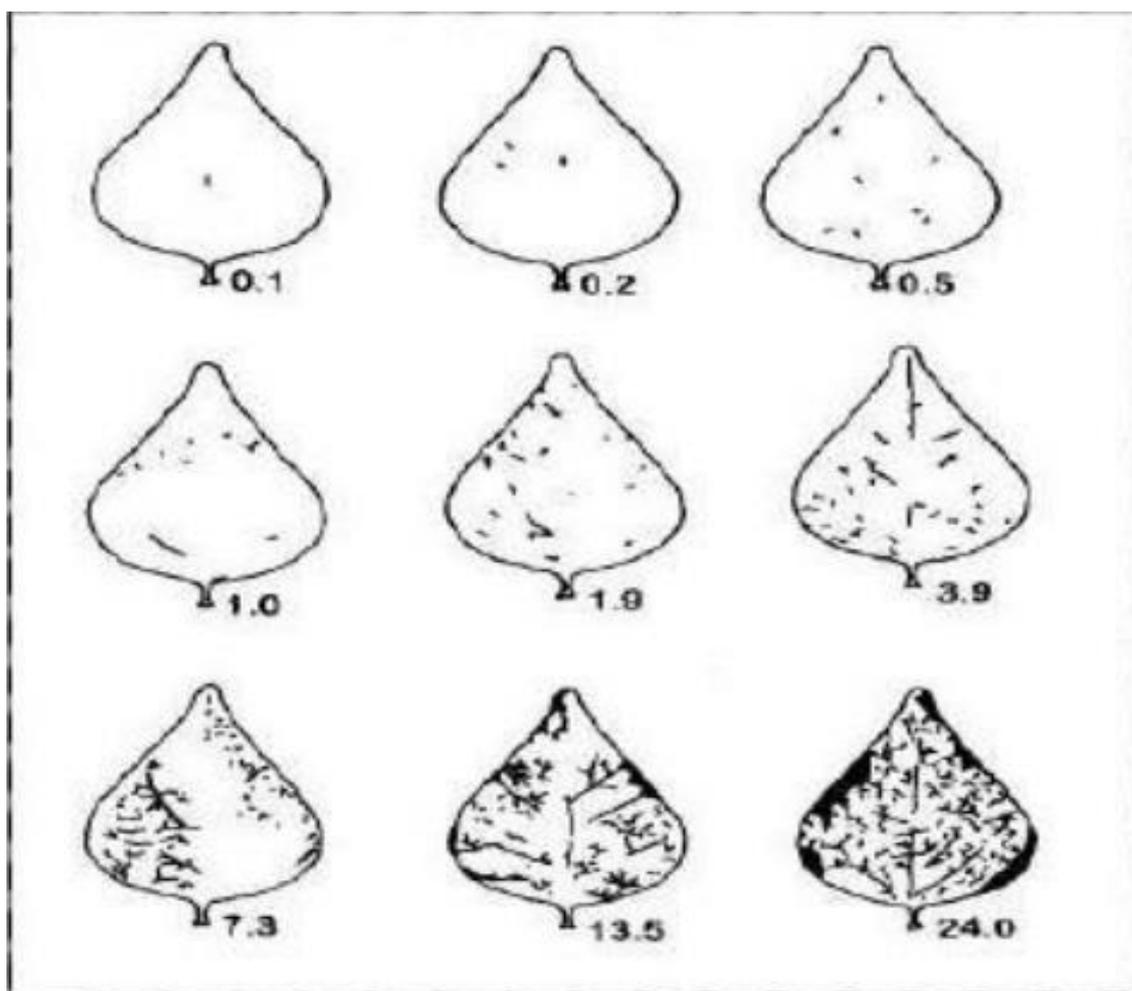


Figura 1: Escala diagramática de avaliação de Antracnose em feijoeiro. (Fonte: adaptada de Godoy et al. (1997).

4.4. Inoculação do patógeno e bactérias em linhagens de feijão-vagem

Dois critérios de seleção foram utilizados para definir quais linhagens seriam submetidas à inoculação com a bactéria, sendo eles: as linhagens que apresentaram maior resistência ao patógeno, da metodologia descrita no item 4.3, e conjuntamente, as linhagens que apresentaram as maiores médias de número de vagens coletadas em experimento de campo conduzido pelo grupo de pesquisa coordenado pelo professor Geraldo de Amaral Gravina.

Dessa forma, as linhagens L6, L10, L23 e L27 foram conduzidas ao processo de inoculação em condições controladas, utilizando o delineamento em blocos casualizados, arranjo fatorial simples com três repetições e nove plantas por parcela (quatro linhagens de feijão-vagem em quatro condições de cultivo: controle-

linhagem e água; linhagem e fungo; linhagem e bactéria; linhagem, fungo e bactéria), totalizando 48 parcelas.

As parcelas foram compostas por plantas semeadas em copos plásticos de 500 mL, contendo substrato comercial Basaplant®. Foram utilizadas na semeadura quatro sementes por vaso e cinco dias após a emergência das plântulas foi realizado o desbaste, deixando apenas três plantas por copo. A etapa de obtenção da bactéria foi realizada no Laboratório de Biologia Celular e Tecidual (LBCT), do Centro de Biociências e Biotecnologia (CBB) da UENF. A bactéria foi cultivada em meio DYGS (Rodrigues Neto, 1986), que tem a seguinte composição (g.L⁻¹): glicose, 2; extrato de levedura, 2; peptona, 1,5; K₂HPO₄, 0,5; MgSO₄.7H₂O, 0,5; e ácido glutâmico, 1,5. O meio foi autoclavado a 1 atm por 20 minutos e o pH ajustado para 6,0 com KOH antes da esterilização.

Para preparo do pré-inóculo, uma alçada da cultura bacteriana mantida em meio sólido a 4°C foi transferida para um frasco Erlenmeyer de 125 mL, coberto com fina manta de algodão e gaze, contendo 25 mL de meio. O frasco foi incubado em incubadora-agitadora de movimento recíproco (NOVA ÉTICA 430 RDB) a 30 °C e 120 minutos por 15 h. Uma alíquota de 5% (v/v) desta pré-cultura foi transferida para frascos Erlenmeyer de 500 ml contendo 100 mL de meio, os quais foram incubados por 18 h nas mesmas condições

A inoculação da bactéria foi realizada antes do plantio, onde parte das sementes de feijão-vagem foram desinfestadas superficialmente por imersão em etanol a 70% por um minuto e, em seguida, foram lavadas quatro vezes com água ultrapura, por fim, as sementes foram imersas na suspensão bacteriana com concentração celular corrigida para 10⁷UFC/mL, por 30 minutos. Já para a inoculação do patógeno, uma semana após da emergência da planta, foi preparada uma suspensão de 10⁶esp/mL do fungo *C. lindemuthianum* que foi inoculada manualmente com o auxílio de um aspersor sob a planta.

As plantas foram avaliadas após um mês de plantio, onde a severidade, considerando a ocorrência de antracnose nas plantas, foi avaliada através da escala proposta por Godoy et.al., (1997) que melhor se adequou ao presente trabalho. Os resultados das variáveis foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas utilizando-se o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. 1 Meios de cultura do *C. lindemuthianum*

Com relação à esporulação do *C. lindemuthianum* em diferentes meios de cultura, foram avaliadas diferentes características acerca das colônias formadas: diâmetro e número de conídios, coloração, forma, borda e zona concêntrica:

Tabela 3: Características morfológicas das colônias formadas nos diferentes meios de cultura do Teste de Esporulação

| Meios de Cultura | Coloração | Forma | Borda | Zona Concêntrica |
|---------------------|------------------|-----------|--------------|------------------|
| BDA | Branca | Circular | Bem definida | Sem Anel |
| Mathur | Branca com Preto | Circular | Bem definida | Com anel |
| Vagem-ágar | Cinza com branco | Circular | Bem definida | Com anel |
| Vagem com dextrose | Preta com cinza | Irregular | Bem definida | Com anel |
| Vagem sem dextrose | Cinza | Circular | Bem definida | Sem anel |
| Feijão com dextrose | Cinza escura | Irregular | Bem definida | Sem anel |
| Feijão sem dextrose | Cinza com preto | Circular | Indefinida | Sem anel |



Figura 2: Fotografia das colônias formadas nos diferentes meios de cultura, aos 15 dias de cultivo.

Em relação à diversidade de coloração observada nas colônias (Figura 2) entre os diferentes meios de cultura é possível inferir que a composição química do meio possa influenciar na resposta metabólica do *C. lindemuthianum*. Visto que diversos fatores podem alterar o desenvolvimento do patógeno, o fator luminosidade, por exemplo, pode alterar a germinação de conídios, a taxa de crescimento vegetativo, a formação de estruturas reprodutivas, além de influenciar principalmente a pigmentação, a morfologia e o tamanho de diversas espécies de fungos, mesmo que o isolado utilizado nos diferentes meios de cultura tenha sido o mesmo (Santos et al., 2005). No presente trabalho os diferentes meios de cultura foram mantidos sob as mesmas condições de temperatura e luminosidade, reforçando que a diversidade encontrada nas colônias está relacionada com a composição química dos diferentes meios de cultura utilizados no presente trabalho.

Em relação à forma das colônias nos diferentes meios de cultura, apenas os tratamentos de feijão e vagem com dextrose apresentaram formato de colônia irregular, nesse sentido, podem ser consideradas algumas hipóteses para o resultado obtido. Dentre elas, na literatura é possível encontrar em alguns trabalhos que a glicose é a fonte de carbono que possui a melhor composição energética

para que *C. lindemuthianum* se desenvolva em meios de cultivo (Ries et al., 2016). Dessa forma, a utilização da dextrose como fonte de carbono nos dois meios de cultura pode ter afetado o crescimento micelial, fazendo com que em ambos os casos as colônias se desenvolvessem com formatos irregulares.

As bordas das colônias se mantiveram bem definidas na maioria dos tratamentos, com exceção do feijão sem dextrose, que apresentou a borda da colônia indefinida, o que sugere uma relação com a composição nutricional do meio de cultura e a taxa de crescimento do patógeno. A borda bem definida de uma colônia geralmente costuma indicar que há um crescimento homogêneo do microrganismo, enquanto a borda irregular pode sugerir variações nas taxas metabólicas e intensidade de esporulação do fungo (Almeida et al., 2015).

A cerca das zonas concêntricas, apenas os meios Mathur, Vagem-ágar e Vagem com dextrose apresentaram zonas concêntricas, tais resultados podem estar sendo influenciados pela atividade metabólica do isolado fúngico, devido às condições nutricionais, assim como por fatores como temperatura, luminosidade e até mesmo pelo potencial hidrogeniônico (Gomes e Pena, 2016). Como todos os tratamentos foram mantidos sob as mesmas condições de temperatura e luminosidade, é possível que a diversidade observada na presença ou ausência de zona concêntrica esteja relacionada com o desenvolvimento metabólico do isolado fúngico diante das diferentes fontes nutricionais presentes nos distintos meios de cultura.

Tabela 4: Média dos diâmetros das repetições das colônias formadas e média dos números de conídios produzidos nos diferentes meios de cultura, avaliados no experimento de caracterização de *C. lindemuthianum*

| Meios de Cultura | Diâmetro da Colônia (mm) | Número de Conídios em 10 ml |
|-------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| BDA | 3,2 - 3,0 | 0 |
| Mathur | 6,4 - 6,5 | 170 |
| Vagem-ágar | 5,6 – 6,3 | 335 |
| Vagem com dextrose | 7,4 – 7,4 | 0 |
| Vagem sem dextrose | 6,4 – 6,4 | 0 |
| Feijão com dextrose | 4,4 – 4,5 | 27 |
| Feijão sem dextrose | 5,6 – 5,6 | 3 |

Com relação ao tamanho do diâmetro da colônia formada e a produção de conídios, na Tabela 4 é possível verificar que não houve uma relação direta entre as duas variáveis, ou seja, o tamanho do diâmetro não influencia diretamente na produção de conídios. Tal afirmativa pode ser confirmada ao se observar o meio de cultura de vagem com dextrose, que apresentou colônia com maior diâmetro, e, entretanto, não houve produção de conídios. A produção de conídios é uma variável muito importante no estudo de antracnose, visto que a obtenção de isolados que produzam esporos é uma tarefa de complexa realização, fazendo com que seja necessária uma padronização rigorosa das condições ambientais ou dos meios de cultura os quais o isolado será submetido (Cruz et al., 2009).

O resultado obtido para o meio de cultura BDA em relação ao número de conídios já era esperado, pois na literatura é possível encontrar trabalhos que afirmam que o tratamento em questão é mais eficiente para o isolamento inicial do patógeno e o crescimento micelial, entretanto, não é um meio de cultura eficiente para que o *C. lindemuthianum* produza esporos (Nozaki et al., 2004). Tal resultado demonstra que um meio de cultura pode apresentar eficiência para o crescimento micelial fúngico e, no entanto, não ser eficiente para a produção de esporos.

Ainda em relação ao número de conídios obtidos, verificou-se que os melhores meios de cultura para a esporulação do patógeno foram os meios Mathur e Vagem-ágar. O meio de cultura Mathur, especificamente, foi sugerido originalmente por Mathur e colaboradores (1950), mostrando-se um meio de cultura eficiente para a esporulação de *C. lindemuthianum*, o presente trabalho também demonstrou a eficácia do mesmo na esporulação do patógeno.

Apesar do meio Mathur apresentar eficácia, quando se compara a média da produção de conídios do mesmo com o meio de cultura Vagem-ágar, é possível perceber que a produção de esporos é maior em Vagem-ágar, tal relação pode ser explicada pelo fato de *C. lindemuthianum* esporular de forma mais eficaz em meios de cultura ricos em extratos vegetais.

Em relação aos conídios fotografados, os meios de cultura que produziram maior número de conídios foram fotografados, sendo assim, os meios Mathur e Vagem-ágar:

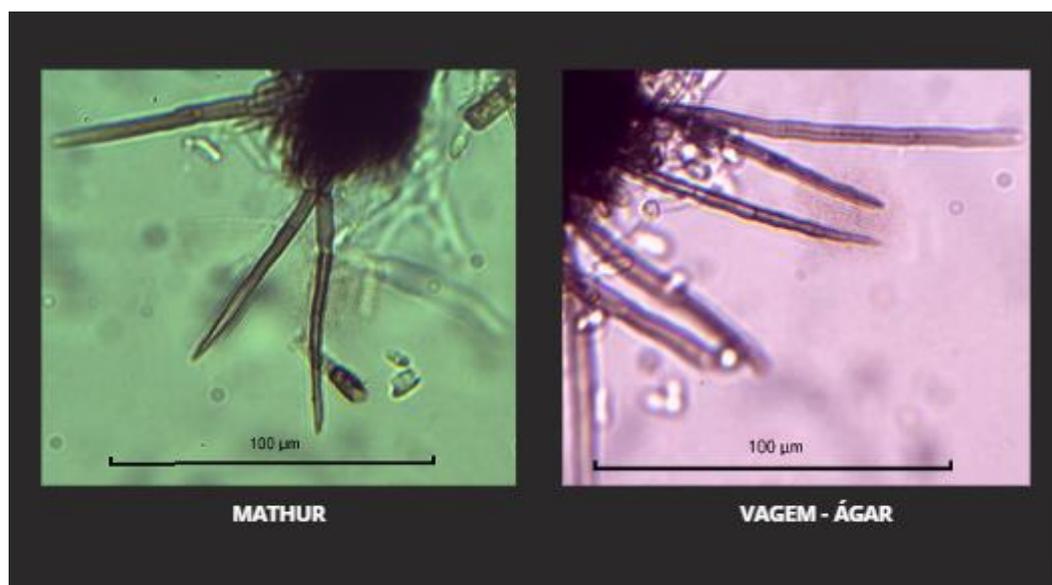


Figura 3: Estrutura de seta característica de *Colletotrichum lindemuthianum*, fotografadas a partir do microscópio Moticom 2500 5.0 Pixel USB2. 0, nos meios de cultura Mathur e Vagem-ágar aos 15 dias de cultivo.

Na figura 3 é possível verificar uma estrutura bem característica de *C. lindemuthianum*, a presença da mesma confirma que de fato o isolado CL04 se trata realmente do patógeno. Em relação à foto dos conídios, houve diferenças notórias entre os esporos formados no meio Mathur e no meio de Vagem-ágar:

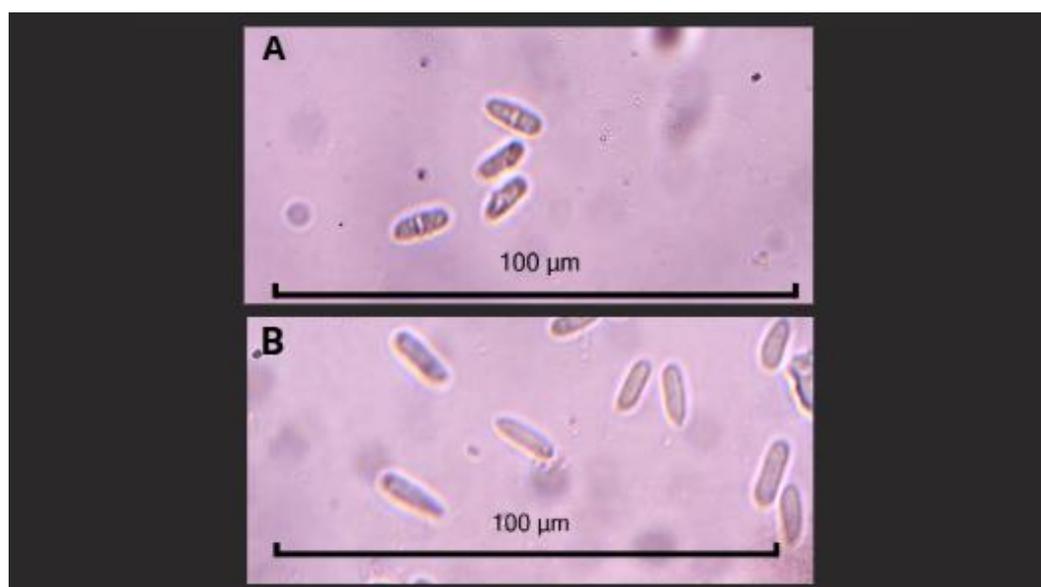


Figura 4: Conídios de *C. lindemuthianum* fotografados a partir da colônia obtida no meio de cultura Mathur (A) e em Vagem-ágar (B), aos 15 dias de cultivo.

Definir a morfologia do gênero *Colletotrichum* é desafiador, pois a diferenciação das espécies baseia-se em um número limitado de características, como a morfologia e o tamanho dos conídios, além do tipo de apressórios (Cannon et al., 2000). Além disso, a variação ambiental pode influenciar a expressão desses traços, resultando em formas intermediárias frequentes.

Os conídios observados a partir da colônia formada no meio de cultura Mathur (Figura 4-A) apresentaram septos, diferentemente dos conídios observados em meio de cultura Vagem-ágar (Figura 4-B). A presença ou ausência de septos está relacionada com a fase da germinação, onde os conídios de *Colletotrichum*, que inicialmente possuem uma única célula, podem desenvolver um septo transversal após a divisão mitótica do núcleo, tornando-se bicelulares. Portanto, o resultado observado indica que o isolado fúngico se encontrava em fases de germinação distintas nos meios de cultura.

Em relação ao tamanho dos conídios, na microscopia foi possível verificar que houve uma diferença visual nas dimensões dos conídios formados no meio Mathur e no meio de cultura Vagem-ágar. O resultado pode estar relacionado com o fato de que o isolado fúngico se encontrava em fases de germinação distintas. Além disso, a variabilidade de *C. lindemuthianum* pode ser influenciada por diversos fatores, incluindo condições ambientais, interação com o hospedeiro, mecanismos de diversificação genética e pressão seletiva, entre outros (Matiello et al., 1997; Rodriguez-Guerra et al., 2006). Pode-se afirmar ainda que as diferenças morfológicas observadas no presente trabalho não estão relacionadas com a diferenciação de raças e com a patogenicidade do fungo (Alzate-marin et al., 2001).

5. 2 Seleção de linhagens e comparação de escalas

De acordo com a análise de variância (ANOVA) gerada a partir dos dados obtidos pela avaliação da severidade através da escala proposta por Pastor Corrales e Tu (1989) houve diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos avaliados, ou seja, o resultado reitera a diversidade genética entre as diferentes linhagens, o que proporciona níveis distintos de resistência ao patógeno. O fator bloco, por outro lado, não apresentou significância, ou seja, não houve variação entre blocos. Tal resultado é importante, pois garante que a disposição

dos tratamentos foi adequada, permitindo que fatores abióticos não tivessem efeito significativo sobre os tratamentos.

Tabela 5: Análise de Variância, gerada a partir da escala de severidade de antracnose, proposta por Pastor-Corrales e Tu, (1989)

| Fontes de Variação | GL | SQ | QM | F | Pr>Fc |
|--------------------|-----|---------|--------|--------|--------------------------|
| Tratamento | 45 | 171,066 | 3,8015 | 11,712 | 0,0000(**) |
| Bloco | 2 | 0,964 | 0,4820 | 1,485 | 0,23199(^{ns}) |
| Resíduo | 90 | 29,213 | 0,3246 | | |
| Total | 137 | 201,243 | | | |
| CV | | 27,79% | | | |

Em relação ao coeficiente de variação (CV), o mesmo está relacionado com a precisão do experimento (Kalil, 1977; Garcia, 1989). Entretanto, em experimentos que envolvem diferentes genótipos é comum que a variável em questão apresente valores altos devido a diversidade genética envolvida.

De acordo com a avaliação da severidade de antracnose utilizando a escala proposta por Pastor-Corrales e Tu, (1989), vinte e duas linhagens apresentaram maior resistência ao isolado CL04, quando comparadas com as demais linhagens. As mesmas foram agrupadas no Grupo D, de acordo com a análise estatística gerada pelo Teste Scott-Knott.

Tabela 6: Grupos gerados pelo método de agrupamento Scott-Knott, gerados a partir da escala proposta por Pastor Corrales e Tu, (1989)

| Grupos | Linhagens | Média do grupo |
|---------|---|----------------|
| Grupo A | L16 - L1 - L18 - L28 - L9 | 4,4 |
| Grupo B | L21 - L25 - L33 - L22 - L36 - L8 - L35 - L32 - L34 - L13 - L42 | 2,9 |
| Grupo C | L7 - L4 - L6 - L11 - L45 - L43 - L38 - L53 | 1,8 |
| Grupo D | L41 - L23 - L52 - L19 - L48 - L47 - L17 - L50 - L12 - L31 - L40 - L44 - L46 - L39 - L10 - L30 - L54 - L27 - L29 - L37 - L49 - L51 | 1,1 |

Durante a avaliação da severidade de antracnose nas plantas avaliadas, foi possível verificar que as linhagens pertencentes ao Grupo C e D apresentaram sintomas de antracnose apenas na área foliar, diferentemente dos Grupos A e B, que apresentaram sintomas nos talos, ramos e pecíolos, como destacado na Figura 5.

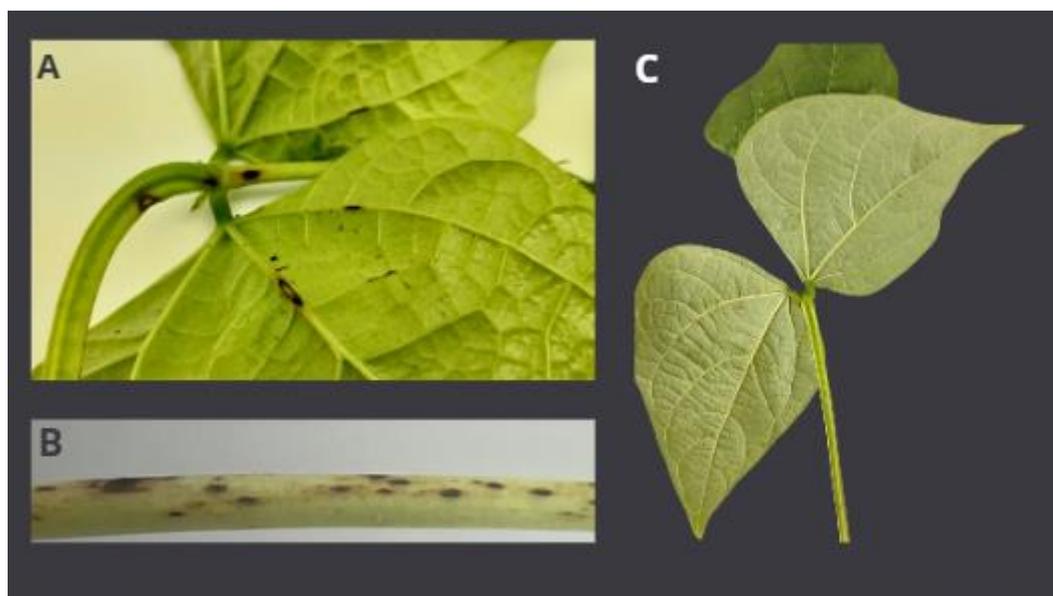


Figura 5: Lesões de antracnose presentes na área foliar e no talo da linhagem L-22, pertencente ao Grupo B (A). Lesão de antracnose presente no caule herbáceo da linhagem L-22, pertencente ao Grupo B (B). Ausência de sintomas de Antracnose na linhagem L-19, pertencente ao Grupo D (C).

Diante da observação, a escala proposta por Pastor-Corrales e Tu, (1989) se mostrou mais eficiente para avaliar as linhagens dos grupos A e B, visto que a escala descritiva em questão engloba lesões nos talos, ramos e pecíolos, como por exemplo, na nota 6 (manchas necróticas na maioria das nervuras perceptíveis em ambas às faces das folhas e presença de algumas lesões nos talos, ramos e pecíolos) foram condizentes com a escala, ou seja, a escala se mostrou mais eficiente para linhagens que apresentaram alta suscetibilidade ao patógeno.

Apesar da escala proposta por Pastor-Corrales e Tu, (1989) apresentar notas que englobam as lesões supramencionadas, foi observado que algumas linhagens do Grupo A e B apresentaram poucas lesões foliares, entretanto, as mesmas apresentavam lesões nos caules herbáceos, como na linhagem L-22 representada na (Figura 5 A e B). A mesma apresentou menos de 3% das nervuras

afetadas, então, deveria receber nota 2, entretanto, a mesma apresentou algumas lesões no caule herbáceo, o que levou a linhagem a receber uma nota de severidade superior em relação à severidade observada durante a avaliação.

Assim como na escala descritiva proposta por Pastor-Corrales e Tu, (1989), também foi realizada uma análise de variância com os dados obtida através da avaliação da severidade utilizando a escala diagramática proposta por Godoy e colaboradores (1997). Além disso, a mesma também foi submetida ao teste estatístico de Scott-Knott.

Tabela 7: Análise de Variância (ANOVA), gerada a partir da escala de severidade de antracnose, proposta por Godoy e colaboradores (1997)

| Fontes de Variação | GL | SQ | QM | F | Pr>Fc |
|--------------------|-----|----------|---------|----------|--------------------------|
| Tratamento | 45 | 238, 370 | 5, 2971 | 12, 2769 | 0,0000(**) |
| Bloco | 2 | 1, 006 | 0, 5032 | 1, 1662 | 0,31621(^{ns}) |
| Resíduo | 90 | 38, 832 | 0, 4315 | | |
| Total | 137 | 278, 208 | | | |
| CV | | 72,85% | | | |

De acordo com a análise de variância (ANOVA) gerada a partir dos dados obtidos pela avaliação da severidade através da escala proposta por Godoy e colaboradores (1997), houve diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos avaliados, ou seja, o resultado reitera a diversidade genética entre as diferentes linhagens, o que proporciona níveis distintos de resistência ao patógeno. O fator bloco, por outro lado, não apresentou significância, ou seja, não houve variação entre blocos. Tal resultado é importante, pois garante que a disposição dos tratamentos foi adequada, permitindo que fatores abióticos não tivessem efeito significativo sobre os tratamentos, ou seja, houve homogeneidade entre os blocos.

Tabela 8: Grupos obtidos pelo Teste Scott-Knott a partir da avaliação da severidade de antracnose através da escala proposta por Godoy e colaboradores (1997), nas linhagens submetidas ao teste de virulência. .

| Grupos | Linhagens | Média da severidade do grupo |
|---------------|---|-------------------------------------|
| Grupo A | L1 - L28 – L16 | 4,8 |
| Grupo B | L18 - L33 - L22 | 2,9 |
| Grupo C | L42 - L8 - L9 - L35 - L25 -L36 - L21 - L34 - L7 - L13 -L11 - L32 | 1,2 |
| Grupo D | L43 – L4 – L53 – L6 – L38– L45 – L52 – L41- L47 – L44 - L12 – L19 – L23 – L46 – L39 – L48 – L50 – L17 – L30 – L31 – L40 – L10 – L54 – L27 – L29 – L37 – L49 – L51 | 0,1 |

A escala diagramática proposta por Godoy e Colaboradores (1997) se mostrou mais eficiente para avaliar o grupo que demonstrou menos suscetibilidade em relação ao isolado CL04, ou seja, o Grupo D. Visto que as linhagens do grupo em questão apresentaram doença apenas em suas áreas foliares a escala diagramática se mostrou mais eficaz e representativa para as notas recebidas e as lesões observadas. Ao longo dos anos as escalas diagramáticas vêm se destacando como a principal ferramenta de avaliação para mensurar a severidade de maneira eficaz (Martins et al., 2004). Tais escalas são elaboradas através de representações ilustrativas de plantas, folhas ou outras partes vegetativas, exibindo sintomas em distintos níveis de severidade (Bergamin Filho e Amorim, 1996). O uso das mesmas pode contribuir uma redução da subjetividade nas estimativas realizadas por diferentes avaliadores, além disso, podem aumentar a precisão e a acurácia das avaliações (Martins et al., 2004).

5.3. Inoculação com *G. diazotrophicus*

Como descrito no item 4.4, foram utilizados dois critérios para a seleção das linhagens que seriam submetidas à inoculação, portanto, as linhagens do Grupo D do Teste de Virulência, foram previamente selecionadas para verificação individual de cada uma em relação suas médias de produção de vagens.

Tabela 9: Linhagens que apresentaram as menores médias, agrupadas pelo Teste de Scott-Knott e suas respectivas médias para produção do número de vagens.

| Linhagens | Média de número de vagens |
|-----------|---------------------------|
| L4 | 177 |
| L6* | 259 |
| L10* | 289 |
| L12 | 113 |
| L23* | 259 |
| L27* | 164 |
| L31 | 126 |
| L37 | 117 |
| L41 | 92 |
| L44 | 140 |

Quatro linhagens do Grupo D foram selecionadas para serem submetidas à inoculação com a bactéria, as mesmas encontram-se destacadas (*) na Tabela 10.

Os dados obtidos após a inoculação foram submetidos à análise de variância e à análise fatorial simples, dado o número de linhagens envolvidos no experimento e o número de tratamentos. De acordo com a análise de variância (ANOVA) gerada a partir dos dados obtidos pela avaliação da severidade através da escala proposta por Godoy e colaboradores (1997), o fator bloco, não apresentou significância, ou seja, a disposição dos tratamentos foi adequada, permitindo que fatores abióticos não tivessem efeito significativo sobre os tratamentos, portanto, houve homogeneidade entre os blocos:

Tabela 10: Análise de Variância (ANOVA), gerada a partir da avaliação de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL-5 e *Colletotrichum lindemuthianum* nas linhagens de feijão-vagem, descritas no item 4.4.

| FV | GL | SQ | QM | F | Significância |
|------------------|----------|---------|---------|-----------|---------------|
| BLOCOS | 2 | 0,00643 | 0,00321 | | Ns |
| Linhagens | 3 | 0,41844 | 0,13948 | 32,46234 | ** |
| Fungo | 3 | 4,00694 | 1,33565 | 310,85645 | ** |
| Linhagem x Fungo | 9 | 1,05129 | 0,11681 | 27,18607 | ** |
| RESÍDUO | 30 | 0,1289 | 0,0043 | | |
| TOTAL | 47 | 5,612 | | | |
| MÉDIA | 0,188541 | | | | |
| CV(%) | 34,76630 | | | | |

Entretanto, houve diferença significativa entre as linhagens e as mesmas em associação com o fungo, indicando que há diferença genética entre as linhagens e há diferença de resistência genética entre elas em relação ao fungo. Dado a diversidade genética presente nas linhagens, já era esperado que houvesse diferenças em relação à resistência genética individual das mesmas em reação ao isolado fúngico CL04.

Tabela 11: Análise Fatorial Simples dos diferentes tratamentos analisados a partir da inoculação de *G. diazotrophicus* nas linhagens L6, L10, L23 e L27.

| Linhagem | Controle | Bactéria | Fungo | Fungo+bactéria |
|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|-----------------------|
| L6 | 0,01 B a | 0,01 B a | 1, 153 A a | 0,11 B a |
| L10 | 0,01 B a | 0,01 B a | 0,89 A b | 0,01 B a |
| L23 | 0,01 B a | 0,01 B a | 0,31 A c | 0,01 B a |
| L27 | 0,01 B a | 0,01 B a | 0,4 A c | 0,053 B a |

*Letras maiúsculas e minúsculas diferentes nas colunas ou linhas indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$);

De acordo com a análise, ao comparar os tratamentos Fungo +Bactéria e Fungo, é possível verificar que no tratamento em que havia a bactéria houve melhor desempenho para a resistência ao patógeno, quando a mesma não estava inoculada conjuntamente com o patógeno. O resultado reitera que *G. diazotrophicus* desempenha um papel significativo no biocontrole de patógenos vegetais através de seu potencial antagônico já demonstrado contra diversos organismos de relevância agrícola (Oliveira et al., 2018).

6. CONCLUSÕES

A bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL -5 demonstrou eficiência para estimular a indução de resistência à antracnose nas linhagens testadas sob as condições de cultivo utilizadas. Portanto, as linhagens L-6, L-10, L-23 E L-27 apresentaram resistência ao patógeno, quando inoculadas com a bactéria, ou seja, são promissoras para serem estudadas e utilizadas em programas de melhoramento genético, que visam estudar a resistência de plantas de feijão-vagem à antracnose, aliadas à bactéria *G.diazotrophicus*.

A escala diagramática proposta por Godoy e colaboradores (1997) demonstrou eficiência para avaliar a área foliar das linhagens de feijão-vagem, enquanto a escala proposta por Pastor-Corrales e Tu (1989) demonstrou melhor eficiência para avaliar linhagens de feijão-vagem que apresentaram maior suscetibilidade ao patógeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adesemoye, A. O., Torbert, H. A, Kloepper, J. W. (2009). Plant growth-promoting rhizo bacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial ecology*, 58(4), 921-9.
- Almeida, M. G.; Santos, L. A.; Pereira, R. F. (2015) Fatores ambientais e crescimento de fungos fitopatogênicos. *Revista Brasileira de Fitopatologia*, v. 40, n. 3, p. 287-295.
- Alves, A. L., & Nunes, M. (2008). Uso de *Trichoderma* spp. no Controle de Doenças da Cultura do Feijoeiro. *Revista Técnico-Científica*, n. 4, 2016.
- Alzate-marin, A. L.; Nietsch, S.; Costa, M. R.; Souza, K. A.; Sartorato, A. (2001) Análises do DNA de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* e *Phaeoisariopsis griseola* visando identificação de patótipos. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 197-203, abr./jun.
- Bergamim Filho A., Amorim L. (1996) Doenças de Plantas Tropicais: Epidemiologia e Controle Econômico. Editora Ceres, São Paulo, p.289.
- Buchenauer, H.(1998) Biological control of soil borne diseases byrhizobacteria. *Journal of Plant Disease and Protection*, v. 105, p.329-348.
- Carbonell, S.A.M.; Ito, M. F.; Pompeu, A.S.; Francisco, F. G.; Ravaganani, S.; Almeida, A. L. L. (1999) Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum*

e reação de cultivares e linhagens de feijoeiro no Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.24, n.1, p.60-65, mar.

Camargo, L. E. A.; Bergamin Filho, (1995) A. Controle genético. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos, 3 ed. São Paulo, *Agronômica Ceres*, p. 729- 758.

Camargo, L. E. A. (2018) Genética da interação patógeno-hospedeiro. In: In: Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Bergamin Filho, A. Manual de fitopatologia Volume 1: princípios e conceitos. 5. ed. Ouro Fino: Editora Agronômica Ceres Ltda. p. 85- 92.

Camargo Filho, W. P; Camargo, F. P. (2017) [IEA-Instituto de Economia Agrícola] – PIB da produção de hortaliças no estado de São Paulo. Disponível em: <https://revistadeagronegocios.com.br/iea-instituto-de-economia-agricola-pib-da-producao-de-hortalicas-no-estado-de-sao-paulo-2017/>, acesso: 09. Fev. 2025.

Cannon, P.F., Bridge, P.D. & Monte, E. (2000) Linking the past, present, and future of *Colletotrichum* Systematics. In: Prusky, D., Freeman, S. & Dickman, M.B. (Eds.). *Colletotrichum: Host Specificity, Pathology and Host–Pathogen Interaction*. St. Paul. APS Press. 2000. pp.1–19.

Cardoso, E.J. B.N.; Bergamin filho, A. (1978) Manual de fitopatologia. 2. ed. São Paulo: Ceres, v.I, p.58-123.

Castellani, A. (1939) The viability of some pathogenic fungi in sterile distilled water. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Oxford, v. 42, n. 3, p. 225-226, May.

Cavalcante VA, Döbereiner J. (1988) Uma nova bactéria fixadora de nitrogênio tolerante a ácidos associada à cana-de-açúcar. *Planta e solo*. 1988; 108 (1):23–31. doi: 10.1007/BF02370096.

Cavalcante G.R.S.; Carvalho, E.M.S.; Gomes, R.L.F.; Santos, A.R.B.; Santos, C.M.P.M. (2012) Reação de subamostras de feijão-fava à antracnose. *Summa Phytopathologica*, 38 (4), p. 329-333.

- Ceagesp. (2017) Vagem Macarrão. Disponível em: <https://ceagesp.gov.br/guia-ceagesp/vagem-macarrao/> Acesso: 04. Fev. 2025.
- Ceasa. (2021) - Prohort - Programa Brasileiro de Modernização do Mercado de Hortigranjeiro. <http://www.ceasa.gov.br/precos.php>. Página mantida pelo CEASA.
- Crispín, M.A.; Sifuentes, J.A.; Avila, J.C. (1976) Enfermedades y plagas dei frijolen México. México: INLA, 42p. (INIA. Folleto de Divulgación, 39).
- Conrath, U.; Beckers, G. J. M.; Langenbach, C. J. G.; Jaskiewicz, M. R. (2015) Priming for enhanced defense. *Annual Review of Phytopathology*, v. 53, p. 97–119.
- Cook, R. & Baker, K. (1983) *A natureza e a prática do controle biológico de patógenos vegetais*. St Paul, MN, EUA : American Phytopathological Society.
- Cocking, E.C., Stone, P.J., Davey, M.R. (2006) Intracellular colonization of roots of *Arabidopsis* and crop plants by *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Vitr Cell Dev Biol – Plant*. 42:74–82.
- De Oliveira, T.R.A.; Gravina, G.A.; da Cruz, D.P.; Silva, N.D.; de Oliveira, G.H.F.; de Sant’Anna, C.Q.S.S.; Magalhães, M.M.; Berbert-Molina, M.A.; Alcantara Neto, F. (2019) The Performance of Bean Pod Lineage Inoculated with *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Sci. Hortic*, 249, 65–70.
- Cruz, M. F. A.; Prestes, A. M.; Maciel, J. L. N. (2009) Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura e regimes de luz. *Ciência Rural*, v.39, p.1562-1564.
- Figueiredo, M.B. (2001) Doenças fúngicas emergentes em grandes culturas. *O Biológico*, p.63, 29-32.
- Ellis, J.G. (1979) *Agrobacterium*: genetic studies on agromycin 84 production and the biological control of crown gall. *Physiology Plant Pathology*, v.15, p.311-319.
- Filgueira, F.A.R. (2003) Novo manual de olericultura: Agrotecnologia Moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: Editora UFV, 412p.

- Garcia, C.H. (1989) Tabelas para classificação do coeficiente de variação. Piracicaba: IPEF, 12p. (Circular técnica, 171).
- Gepts, P., Debouck, D.G. (1991) Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris*). In: Schoonhoven, A. van; Voysest, O. (Ed.). Common beans: research for crop improvement. *Cali*: CIAT, p.7-53.
- Ghorbanpour, M.; Omidvari, M.; Abbaszadeh-dahaji, P.; Omidvar, R.; Kariman, K. (2018) Mecanismos subjacentes aos efeitos protetores de fungos benéficos contra doenças de plantas. *Biological Control*, v. 117, p. 147-157.
- Godoy, C.V.; Bergamin Filho, A.; Salgado, C.L. Doenças do cafeeiro. In: Kimati, A.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Rezende, J.A.M. (1997) Manual de Fitopatologia. 3.ed. São Paulo: *Agronômica Ceres*, v.2, p.184-206.
- Gomes, E. M. C.; Pena, R. C. M. (2016) Isolamento, caracterização morfológica e avaliação do crescimento micelial e esporulação em diferentes meios de cultura de cepas do fungo *Quambalaria sp.* *Biota Amazônia*, Macapá, v. 6, n. 4, p. 59-63.
- Graminha, E. B. N.; Maia, A. S.; Santos, J. M.; Cândido, R. C.; Silva, G. F.; Costa, A. J. (2001) Avaliação in vitro da patogenicidade de fungos predadores de nematóides parasitos de animais domésticos. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v.22, n.1, p.11- 16.
- Halfeld-Vieira, B. A., et al. (2016) Defensivos agrícolas naturais, uso e perspectivas. Brasília, DF: Embrapa E-book no formato PDF.
- Harlan, J.R. (1971). Agricultural origins: centers and no centers. Washington. *Science*. v.174. p. 468- 474.
- Harlan, J.R. (1975). Geographic patterns of variation in some cultivated plants. Baltimore. *Journal of Heredity*. v. 66. p.184-191.
- Intorne, A.C., de Oliveira, M.V.V., Lima, M.L., et al (2009) Identification and characterization of *Gluconacetobacter diazotrophicus* mutants defective in the solubilization of phosphorus and zinc. *Arch Microbiol*. 191:477–483.

- Itelima, J. U.; Bang, W. J.; Sila. M. D.; Onyimba, I. A.; Egbere, O. J. (2018) A review: Biofertilizer - A key player in enhancing soil fertility and crop productivity. *Microbiol Biotechnol Rep*, v.2, p.22-28.
- Jensen, DF , Karlsson, M. , Sarrocco, S. & Vannacci, G. (2016) Controle biológico usando microrganismos como alternativa à resistência a doenças . Em: DB Collinge (Ed.) *Biotechnologia de resistência a patógenos de plantas* . Wiley Blackwell : Nova York e Londres, pp. 341 – 363 .
- Kalil, E.B. (1997) Princípios de técnica experimental com animais. Piracicaba: Esalq/Usp, 210p.
- Kloepper, J.W.; Lifshitz, R.; Zablutowicz, R.M. (1989) Free-living bacteria inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnology*, v.7, p.39-43.
- Krauser W, Rodrigues R, Leal NR (2009) Identificação de fontes de resistência e avaliação de métodos de inoculação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *Flaccumfaciens* em feijão-de-vagem. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, v.33, Edição Especial, p.1901-1907.
- Leandro, M.R., Andrade, L.F., Vespoli, L. de S., et al (2021a) Comparative proteomics reveals essential mechanisms for osmotolerance in *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Res Microbiol*. 172:103785.
- Leandro, M.R., Vespoli, L. de S., Andrade, L.F., et al (2021b) DegP protease is essential for tolerance to salt stress in the plant growth-promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Microbiol Res*. 243:126654.
- Lery LMS, Coelho A, Von Kruger WMA, Gonçalves MSM, Santos MF, Valente RH, Santos EO, Rocha SLG, Perales J, Domont GB, Teixeira KRS, Bisch PM. (2008) Perfil de expressão proteica de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5, uma bactéria endofítica promotora de crescimento de plantas da cana-de-açúcar. *Proteômica*. 8(8):1631–1644. doi: 10.1002/pmic.200700912.
- Logeshwarn, P., Thangaraju, M., Rajasundari, K. (2011) Antagonistic potential of *Gluconacetobacter diazotrophicus* against *Fusarium oxysporum* in sweet potato (*Ipomea batatas*). *Arch Phytopathol Plant Prot*. 44:216–223.

- Luna, M.F., Galar, M.L., Aprea, J., et al (2010) Colonization of sorghum and wheat by seed inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Biotechnol Lett.* 32:1071–1076.
- Magalhães, I. P. B.; Sedyama, M. A. N.; Silva, F. D. B; Vidigal, S. M.; Pinto, C. L. O.; Lopes, I. P. C. (2017) Produtividade e exportação de nutrientes em feijão-vagem adubado com esterco de galinha. *Revista Ceres*, v.64, n.1, p.098-107.
- Mariot, E. J. (2000) Aptidões climáticas, ideótipos e épocas de cultivo do feijoeiro no Paraná. In: IAPAR. Feijão: tecnologia e produção. Londrina: IAPAR, Informe de Pesquisa, p. 5-13.
- Mathur, R. S.; Barnett, H. L.; Lilly, V. G. (1950) Sporulation of *Colletotrichum lindemuthianum* in culture. *Phytopathology*, St. Paul., v. 40, n. 1, p. 104-114, Jan.
- Matiello, R.R.; Barberl, R.L.; Carvalho, I.F. (1997) Resistência das a plantas a moléstias fúngicas. *Ciência rural*, v.2, n.1, p. 161-168.
- Martins MC., Guerzoni RA., Câmara GMS., Mattiazzi P., Lourenço SA., Amorim L. (2004) Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. *Fitopatologia Brasileira*, 29, p.179-184.
- Medeiros, F. H. V.; da Silva, J. C. P.; Pascholati, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. In: Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Bergamim Filho, A. (2018) Manual de fitopatologia volume 1: Princípios e conceitos. 5. ed. Ouro Fino: Editora Agronômica Ceres Ltda. p. 261-274.
- Moreira, J.R., Leandro, M.R., Vespoli, L. de S., et al (2022) Essential role of extracytoplasmic proteins in the resistance of *Gluconacetobacter diazotrophicus* to cadmium. *Res Microbiol.* 173:103922.
- Mota, M. A.; Campos, A. K.; Araújo, J. V. (2003) Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v.23, n.3, p.93- 100.

- Muthukumarasamy, R., Revathi, G., Vadivelu, M. (2000) Antagonistic potential of N₂-fixing *Acetobacter diazotrophicus* against *Colletotrichum falcatum* Went., a causal organism of red-rot of sugarcane. *Curr Sci.* 78:1063–1065.
- Nozaki, M. de H.; Camargo, M.; Barreto, M. (2004) Caracterização de *Diaporthe citri* em diferentes meios de cultura, condições de temperatura e luminosidade. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, p.429-432.
- Nuñez, O. A. M. (1997) Origen y importancia del cultivo de la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Facultad Agronomía*, Maracay, 23:225-234.
- Oliveira, M.M., Ramos, E.T.A., Drechsel, M.M., et al (2018) Gluconacin from *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 is an active bacteriocin against phytopathogenic and beneficial sugarcane bacteria. *J Appl Microbiol.* 125:1812–1826.
- Padder BA, Sharma PN, Awale HE, Kelly JD (2017) *Colletotrichum lindemuthianum*, o agente causal da antracnose do feijão. *J Plant Pathol* 99:317–330.
- Pascholati, S.F.; Leite, B.; Stangarlin, J.R.; CIA, P. (2008) Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular. In: Schwan-estrada, K. R. F.; Stangarlin, J. R.; Pascholati, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.227-248.
- Pastor-Corrales, M. A.; TU, J. C. (1989) Anthracnose. In: Schwartz, H. F.; Pastor Corrales, M. A. (Eds.). Bean production problems in the tropics. Cali: *Centro Internacional de Agricultura Tropical* (CIAT), p.77-104.
- Paula Júnior, T. J.; Vieira, R. F.; Zambolim, L. (2004) Manejo integrado de doenças do feijoeiro. Feijão de alta produtividade. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 25 n. 223, p. 99-103.
- Pedro, E. A. D. S., Harakava, R., Lucon, C. M. M; Guzzo, S. D. (2012) Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47 (11), p.1589-1595.

- Peixoto, N.; Braz, L. T.; Banzatto, D. A.; Oliveira, A. P. (2002) Adaptabilidade e estabilidade em feijão-vagem de crescimento indeterminado. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, 20(4):616-618.
- Peixoto, N; Cardoso, A. I. I. (2016) Feijão-vagem in: Nascimento, W. M. Hortaliças Leguminosas. Brasília: Embrapa, p.61-86.
- Pereira, C. C. A. (2017) Estratégias de seleção para teor de fibra em feijão-vagem. (Dissertação do Curso de Pós-Graduação em Agronomia). Universidade Federal Rural de Pernambuco. 45f.
- Raaijmakers, J. M.; Mazzola, M. (2012) Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, v. 50, p. 403–424.
- Rava, A. C.; Purchio, A. F.; Sartorato, A. (2012) Caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 19, n. 2, p. 167-172, jun.
- Ries LN, Beattie SR, Espeso EA, Cramer RA, Goldman GH (2016) Regulação diversa do repressor catabólico de carbono CreA em *Aspergillus nidulans*. *Genética*; 203:335–352.
- Rodrigues Neto, J., Malavolta Jr., V. A., & Victor, O. (1986). Meio simples para o isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. citri tipo B. *Summa Phytopathologica*, 12(1-2), 26–27.
- Rodriguez, M.V., Tano, J., Ansaldi, N., et al (2019) Anatomical and biochemical changes induced by *Gluconacetobacter diazotrophicus* stand up for *Arabidopsis thaliana* seedlings from *Ralstonia solanacearum* infection. *Front Plant Sci*. 10:1–20.
- Rodriguez-guerra; R.; Acosta-Gallego, J.; González-Chavaria, M.M.; Simpson, J. (2006) Patotipos de *Colletotrichum lindemuthianum* y su implicación en la generación de cultivares resistentes de frijol. *Agricultura Técnica en México*, v. 32, n. 1, p. 101-114.

- Santos, M. A.; Dias, A. P.; Thomazella, D. P. T.; Fernandes, J. C.; Do Vale, F. X. R.; Talamini, V.; Pepletier, G. (2005) Nonpathogenic Strains of *Colletotrichum lindemuthianum* Trigger Progressive Bean Defense Responses during Appressorium-Mediated Penetration. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n. 8, p. 4761-4770, 2005. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.71.8.4761-4770.2005>. Acesso em: 30 de Janeiro de 2025.
- Saravanan, V.S., Madhaiyan, M., Thangaraju, M. (2006) Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic, plant growth promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Chemosphere* 66:1794–1798.
- Saravanan VS, Madhaiyan M, Osborne J, Thangaraju M, Sa TM (2008) Ocorrência ecológica de *Gluconacetobacter diazotrophicus* e membros fixadores de *Acetobacteraceae* : seu possível papel na promoção do crescimento das plantas. *Microb Ecol* 55:130–140. doi: 10.1007/s00248-007-9258-6.
- Sartorato, A. In: Zimmermann, M.J.; Rocha, M.; Yamamada, T. (1988) Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade. Goiânia: Associação Brasileira para a Pesquisa de Potassa e de Fósforo, p.457- 477.
- Silbernagel, M.J. (1986). Snap breeding. In: Basset, M.J (ed.) Breeding vegetable crops. New York: *AviPublishing*, p. 243-282.
- Silva, K. J. D. (2004) Distribuição e caracterização de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* no Brasil. Dissertação (Mestrado em Genética e melhoramento de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.86 p
- Souza ALSR, De Souza SA, De Oliveira MVV, Ferraz TM, Figueiredo Famma, Da Silva ND, Rangel PL, Panisset CRS, Olivares FL, Campostrini E, De Souza Filho GA. (2016) Colonização endofítica de *Arabidopsis thaliana* por *Gluconacetobacter diazotrophicus* e seu efeito na promoção do crescimento das plantas, na fisiologia das plantas e na ativação da defesa das plantas. *Planta e solo*. 2016; 399 (1–2):257–270. doi: 10.1007/s11104-015-2672-5.

- Srebot, M.S., Tano, J., Carrau, A., et al (2021) Bacterial wilt biocontrol by the endophytic bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* in Ríó Grande tomato cultivar. *Biol Control*. 162:104728.
- Stadnik, M. (2000) Indução de resistência a oídios. In: Congresso Paulista de Fitopatologia, Campinas. Anais do Congresso Paulista de Fitopatologia, v. 23, p. 176-181.
- Talamini, V.; Souza, E.A.; Pozza, E.A.; Carrijo, F.R.F.; Ishikawa, F.H.; Silva, K.J.D. e; Oliveira, F.A. (2004) Identificação de raças patogênicas de *Colletotrichum lindemuthianum* a partir de isolados provenientes de regiões produtoras de feijoeiro comum. *Summa Phytopathologica*, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 371-375, jul./set.
- Thoms, D.; Liang, Y.; Haney, C. H. (2021) Maintaining symbiotic homeostasis: how do plants engage with beneficial microorganisms while at the same time restricting pathogens? *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v. 34, n. 1, p. 462-469.
- Tronsmo, A. , Collinge, DB , Alabouvette, C. & Jensen, DF (2020) Controle biológico de doenças de plantas . Em: AM Tronsmo , DB Collinge , A. Djurle , L. Munk , J. Yuen & A. Tronsmo (Eds.) *Patologia vegetal e doenças de plantas* . Wallingford : CABI, pp. 289 – 306 .
- Vanderplank, J. E. (1968) Disease resistance in plants. New York: Academic Press, 206 p.
- Van-Loon, L. C.; Bakker, P. A. H. M.; Pieterse, C. M. J. (1998) Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, v. 36, p. 453-483.
- Van-Loon, L. C.; Van Strien, E. A. (1999) The families of pathogenesis – related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant of Patology*, London, v. 55, p. 85-97.
- Vieira, C.; Borém, A.; Ramalho, M. A. P. (1999) Melhoramento do feijão. In: Borém, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa. Ed. UFV, p. 273-349.

- Vilhordo, B.W.; Mikusinski, O.M.F.; Burin, M.E.; Gandolf, V.H. (1996) Morfologia. IN: Araújo, R.S., Rava, C.A., Stone, L.F., Zimmermann, M.J.O (eds.). Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba. *Associação Brasileira para pesquisa da potassa e do fosfato*, p. 669 -700.
- Vechiato, M.H.; Lasca, C.C.; Kohara, E.Y.; Chiba, S. (2001) Antracnose do feijoeiro: tratamento de sementes e correlação entre a incidência em plantas e infecção de sementes. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.68, p.83-87.
- Voisard, C. et al. (1989) Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO Journal*, v.8, p.351-358.
- Zimmermann, M.J.O.; Teixeira, M.G. (1996) Origem e evolução. In: Zimmermann, M.J.O.; Rocha, M.; Yamada, T. Cultura do feijoeiro comum no Brasil. Piracicaba: *Potafos*, p.57-68.
- Zúñiga A, Donoso RA, Ruiz D, Ruz GA, González B. (2017) Sistemas de detecção de quorum na bactéria promotora do crescimento de plantas *Paraburkholderia fitofirmans* PsJN exibem regulação cruzada e estão envolvidos na formação de biofilme. *Interações moleculares planta-micróbio*; 30 (7):557–565. doi: 10.1094/MPMI-01-17-0008-R.