

**FOSFITOS NA PROTEÇÃO DO FEJJOEIRO
(*Phaseolus vulgaris* L.) CONTRA A ANTRACNOSE**

STÉLIO JORGE CASTRO GADAGA

2009

STÉLIO JORGE CASTRO GADAGA

**FOSFITOS NA PROTEÇÃO DO FEJJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)
CONTRA A ANTRACNOSE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. Mário Sobral de Abreu

LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL

2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Gadaga, Stélio Jorge Castro.

Fosfitos na proteção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) contra a antracnose / Stélio Jorge Castro Gadaga. – Lavras : UFLA, 2009.
82 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.
Orientador: Mário Sobral de Abreu.
Bibliografia.

1. Feijoeiro. 2. *Colletotrichum lindemuthianum*. 3. Peroxidases.
4. Polifenoloxidasas. 5. Fenóis totais. 6. Lignina. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 635.65294

STÉLIO JORGE CASTRO GADAGA

**FOSFITOS NA PROTEÇÃO DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)
CONTRA A ANTRACNOSE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 20 de novembro de 2009

Dra. Sara Maria Chalfoun de Souza	URESME/EPAMIG
Dra. Sónia Maria de Lima Salgado	URESME/EPAMIG
Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende	UFLA

Prof. Dr. Mário Sobral de Abreu
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL

Aos meus pais Celestino Antônio Checanhanza e

*Fátima José Castro Joaquim, pelo amor, apoio, dedicação,
compreensão e incentivo*

DEDICO!

*Aos meus primos Douglas, Eduardo, Celo, Yuri, Alan, Dias e primas. As
minhas tias e tios*

OFEREÇO!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras em particular ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade concedida para realização do curso.

Ao Ministério da Ciência e Tecnologia de Moçambique (MCT - Moçambique) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr. Mário Sobral de Abreu pela orientação, paciência e compreensão.

A Dra. Sara Maria Chalfoun de Souza, Dra. Sónia Maria de Lima Salgado, ao Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende, pela partição da banca examinadora.

Aos demais Professores do Departamento de Fitopatologia, por amenizar a minha fome pelo conhecimento através dos ensinamentos passados com muita dedicação.

Ao Professor Magno Pato Ramalho (Departamento de Biologia) pela ajuda no experimento de campo.

Aos funcionários e ex-funcionários do Departamento de Fitopatologia, Renata, Vladimir, Ana Maria, Rute, Eliane, Heloísa, Cleber, Tarley, pela ajuda e paciência.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Diagnose e Controle de Enfermidades, Bruno, Jucilayne, Fernanda, Rosana, Cecília, Cláudio pela ajuda em todos os momentos.

Ao amigo Pedro pela disposição, ajuda e paciência na condução dos trabalhos.

À equipe de trabalho: Pedro, Daniel, Bruno, Mateus, Felipe, Felipe França, Rodrigo e Helon pelo apoio nos experimentos.

Aos colegas do Departamento, Felipe, Henrique, Luiz Henrique, Glauco, João Eduardo, Vívian, Natália, Carolina, Mirela, Eudes, Adriano, Cleilson, Roberto, Vanessa, André, Cecília e LÍlian pelo companheirismo e momentos de descontração.

A Joyce do Departamento de Biologia pela ajuda, explicação e dedicação.

Aos amigos e compatriotas Moçambicanos, Constantino e Mário, pela ajuda, paciência e pelos momentos de descontração proporcionados.

Aos amigos e irmãos Ismael, Fernando e Djony, pela ajuda concedida aos sábados e domingos de trabalho.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que mais um passo fosse dado rumo a sabedoria, os quais não citei.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1: Fosfitos na proteção do feijoeiro (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) contra a antracnose	1
1 Introdução Geral	2
2 Referencial Teórico.....	5
2.1 A cultura do feijoeiro	5
2.2 Antracnose do feijoeiro.....	6
2.2.1 Etiologia do <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	7
2.2.2 Sintomatologia da antracnose	8
2.2.3 Epidemiologia.....	9
2.3 Indução de resistência de plantas à patógenos.....	11
2.4 Fosfitos como indutores de resistência	13
3 Referências Bibliográficas.....	16
CAPÍTULO 2: Fosfitos no controle da antracnose do feijoeiro em casa-de-vegetação	22
Resumo ¹	23
Abstract ¹	24
1 Introdução	25
2 Material e Métodos	27
2.1 Obtenção de plantas de feijoeiro.....	27
2.2 Obtenção e preparo do inóculo de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	27
2.3 Tratamentos	28
2.4 Avaliação da doença	30
3 Resultados e Discussão	31
4 Conclusões.....	35
5 Referências Bibliográficas.....	36
CAPÍTULO 3: Fosfitos, ácido salicílico, acibenzolar-s-metil e azoxistrobina no manejo da antracnose do feijoeiro em campo.....	39
Resumo	40
Abstract ¹	41
1 Introdução	42
2 Material e Métodos	45
2.1 Obtenção de plantas de feijoeiro.....	45
2.2 Inoculação.....	45
2.3 Tratamentos	46
2.4 Avaliação da doença	47
3 Resultados e Discussão	48
4 Conclusões.....	55

5 Referências Bibliográficas	56
CAPÍTULO 4: Caracterização de mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de proteção induzida do feijoeiro contra <i>Colletotrichum</i> <i>lindemuthianum</i> em plantas tratadas com fosfitos	60
Resumo ¹	61
Abstract ¹	62
1 Introdução	63
2 Material e Métodos	66
2.1 Tratamentos e tempos de coleta	66
2.2 Inoculação	67
2.3 Preparo das amostras para determinação das atividades enzimáticas	67
2.4 Determinação de proteínas totais	68
2.5 Determinação da atividade de Peroxidase	68
2.6 Determinação da atividade de Polifenoloxidase	69
2.7 Determinação do conteúdo de lignina e fenóis solúveis totais	69
3 Resultados e Discussão	71
3.1 Determinação da atividade de Peroxidase	71
3.2 Determinação da atividade de Polifenoloxidase	74
3.3 Determinação do conteúdo de lignina e fenóis solúveis totais	76
4 Conclusões	78
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
CONSIDERAÇÕES FINAIS	82

RESUMO

GADAGA, Stélio Jorge Castro. **Fosfitos na proteção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) contra a antracnose**. 2009. 82p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

O presente trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar o efeito dos fosfitos de potássio, zinco, cobre, manganês, manganês + potássio, potássio + ácido salicílico, ácido salicílico, acibenzolar-S-metil e Agro-Mos® no controle da antracnose do feijoeiro em casa-de-vegetação, verificar o efeito do fosfito de potássio, zinco, manganês, fosfito de potássio + ácido salicílico, ácido salicílico, acibenzolar-S-metil e do amistar no controle da antracnose do feijoeiro em campo e avaliar o efeito da aplicação do fosfito de potássio, de manganês e do acibenzolar-S-metil na atividade da peroxidase, polifenoloxidase, fenóis totais e lignina. Para que estes objetivos fossem alcançados, foram realizados três experimentos. O primeiro e o terceiro experimento foram conduzidos com plantas de feijoeiro cultivar BRS Majestoso do grupo carioca em casa de vegetação. O segundo foi conduzido em campo com a mesma cultivar e mesmo grupo. Observou-se que dentre os diferentes indutores, os fosfitos de potássio (1, 2 e 3) e de manganês na dose de 5mL/L reduziram a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em 81%, 80, 74% e 77%, respectivamente, quando comparados à testemunha, em casa de vegetação. Em campo observou-se que os fosfitos (potássio, zinco, manganês, potássio + ácido salicílico – 5mL/L), o acibenzolar-S-metil (ASM - 0,0625g/L) e ácido salicílico (AS - 0,25g/L) foram eficientes no controle da antracnose do feijoeiro, observou-se ainda que os fosfitos de potássio, zinco e manganês e o fungicida foram os que proporcionaram menores severidades da doença, não diferindo entre si, porém se diferenciado da testemunha. Estes mesmos produtos incrementaram a produtividade do feijoeiro comparados a testemunha em campo. Em casa de vegetação os fosfitos de potássio, manganês e ASM proporcionaram o aumento na atividade de peroxidase, polifenoloxidase e nos teores de fenóis solúveis totais em folhas de feijoeiro, porém não proporcionaram alteração nos teores de lignina solúvel total ao longo das avaliações. O efeito dos fosfitos no controle da antracnose do feijoeiro, provavelmente, se deve, de maneira direta devido ao efeito tóxico sobre o patógeno e indireta por meio de indução de resistência.

¹ **Orientador:** Mário Sobral de Abreu - UFLA.

ABSTRACT

GADAGA, Stélio Jorge Castro. **Phosphites in the protection of the bean plant (*Phaseolus vulgaris* L.) against the anthracnose**. 2009. 82p. Dissertation (Master in Phytopathology)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

The present work was aimed at evaluating the effect of the application of potassium, zinc, copper, manganese, manganese + potassium and potassium + salicylic acid phosphites, salicylic acid, acibenzolar-S-methyl (ASM) and of Agro-Mos® on the control of anthracnose of the bean plant in greenhouse, to verify the effect of the potassium, zinc, manganese and potassium + salicylic acid phosphites, salicylic acid, acibenzolar-S-methyl (ASM) and of amistar on the control of anthracnose of the bean plant in field and to evaluate the effect of the application of the potassium and manganese phosphites and acibenzolar-S-methyl (ASM) in the activity of the peroxidase, polifenoloxidase, total phenols and lignin. To fulfill these objectives, three experiments were carried out. The first and third experiments were led with bean plant of BRS Majestoso cultivars carioca group in green house. The second was led in field with the same cultivar. It was observed that the potassium (1, 2 and 3) and of manganese phosphites in dose of 5mL L⁻¹ reduce the area below the curve of progress of the severity of the disease (AUDPC) in 81, 80, 74 and 77%, respectively, when compared to the witness, in greenhouse. In field, it was observed that the phosphites (potassium, zinc, manganese, potassium + salicylic acid - 5mL/L), ASM (0,0625g/L) and salicylic acid (AS - 0,25g/L) they were efficient in the control of the anthracnose of the bean plant, it was observed although that the potassium, zinc and manganese phosphites and the fungicide were the ones that provided smaller severities of the disease, not differing to each other, however if differentiated of the witness. These same products increased the productivity of the bean plant compared the witness, in field. In greenhouse the potassium, manganese phosphites and ASM provided the increase of the peroxidase, polifenoloxidase, in the tenors of total soluble phenols in bean plant leaves, however they didn't provide alteration in the tenors of total soluble lignin along the evaluation. The effect of the phosphites in the control of the anthracnose of the bean plant, probably, is due, in direct way due to the toxicant effect on the patogen and indirect through resistance induction.

¹ **Advisor:** Mário Sobral de Abreu - UFLA.

**CAPÍTULO 1: Fosfitos na proteção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)
contra a antracnose**

1 Introdução Geral

O feijão é um alimento de grande importância econômica e social para os Países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais, dentre eles o Brasil. Nestes países, esta leguminosa, se constitui em uma das mais importantes e baratas fontes protéicas e calóricas na dieta humana, porém a cultura ainda apresenta baixa produtividade média (900kg/ha), decorrente de vários problemas, dentre eles, a ocorrência de doenças, que são agravadas devido ao seu cultivo em uma grande diversidade de ecossistemas (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE, 2008).

Dentre as doenças do feijoeiro, destaca-se a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, que é considerada a mais grave das enfermidades desta cultura, podendo causar perdas de até 100%, principalmente quando associada a condições ambientais favoráveis e uso de sementes contaminadas (Peloso, 1992). Este patógeno está distribuído de forma ampla, tendo já sido constatado em vários países da Europa, África, Ásia e América.

Os maiores danos causados pela antracnose ocorrem quanto mais precoce for o aparecimento da doença na lavoura. Além de diminuir o rendimento da cultura, a antracnose deprecia a qualidade do produto por ocasionar manchas nos grãos, tornando-os impróprios para o consumo. A antracnose afeta plantas de feijoeiro em todos os estádios de crescimento, provocando lesões em folhas, caule, ramos, vagens e sementes (Sartorato & Rava, 1994).

Dentre os principais métodos de controle desta enfermidade se encontram o controle químico e cultivares resistentes. O controle químico, através de fungicidas, apresenta-se como alternativa para o controle de doenças de plantas, devido aos resultados satisfatórios de sua aplicação. Contudo, estes produtos podem ser perigosos se forem usados de forma incorreta, causando a

contaminação do solo, água e do próprio homem, dentre outros problemas. Tem se verificado a quebra de resistência das cultivares pela grande variabilidade de raças do patógeno, assim sendo, a indução de resistência se mostra como um método alternativo no controle de fungos, além de fornecer nutrientes às plantas, há uma exploração dos mecanismos de defesa endógenos das plantas (Sartorato et al., 2008).

Segundo Hammerschmidt & Dann (1997) e Bonaldo et al. (2005) a indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos. Agentes indutores são compostos ou fatores capazes de ativar mecanismos de defesa da planta e eliciadores são moléculas que estão presentes em indutores que são responsáveis diretos pela ativação dos mecanismos de defesa (Cavalcanti et al., 2005).

Dentre as vantagens da indução de resistência podemos citar: a efetividade contra diversos patógenos (vírus, bactérias, fungos e nematóides) e a estabilidade devido à ação de diferentes mecanismos de resistência entre outras. Entretanto, como desvantagens temos: a resistência parcial, incompleta e que pode requerer reativações temporárias. Porém, devido ao fato da indução de resistência ser parcial e inespecífica não se corre o risco de seleção do patógeno, dificultando assim a quebra de resistência (Cavalcanti et al., 2005).

Segundo Cavalcanti et al. (2005) a resistência sistêmica adquirida (SAR: Systemic Acquired Resistance) envolve o acúmulo de proteínas-RP como mecanismos induzidos de defesa da planta, a sua indução é dependente de salicilato o que pode resultar em alterações visíveis (a exemplo temos as necroses) na planta que sofreu indução e geralmente ocorrem por indução de patógenos ou ativadores químicos. Já na resistência sistêmica induzida (ISR: Induced Systemic Resistance) não se verifica o acúmulo de proteínas-RP, a planta que sofreu indução não apresenta alterações, o agente indutor é

usualmente um microrganismo não-patogênico e sua indução não é dependente do salicilato.

Vários são os trabalhos de indução de resistência com o uso de produtos alternativos eficientes no controle de doenças em feijoeiro, dentre estes se destacam o ASM, AS e produtos derivados de microrganismos. Alguns desses trabalhos foram realizados por Dann & Deverall (1995), quando aplicaram o INA (ácido 2,6-dicloroisonicotínico) em plantas de feijoeiro contra *Colletotrichum lindemuthianum* observaram reduções de 97,6% no número de lesões e 91,6% no número de pontuações no primeiro trifólio e de 94,4 e 98,1% no segundo e terceiro trifólios, respectivamente. Os mesmos autores quando inocularam *Uromyces appendiculatus*, constataram redução de cerca de 66 no primeiro, 85,2 no segundo e de 99% no terceiro trifólios. Já Birigimana & Höfte (2002) ao testarem diferentes doses de ASM, onde mergulharam as folhas em soluções contendo 0,1; 1; 10; 100 e 1000 µM de ASM e três dias após inocularam *C. lindemuthianum*, a partir de suspensão de esporos, concluíram que havia uma dependência da dose utilizada no aumento da resistência. Entretanto, nas doses de 100 e 1000 µM observaram sintomas de fitotoxicidez, pois as mesmas tornaram-se menores e verde escuras. Os mecanismos de resistência estudados em feijoeiro envolvem a reação de hipersensibilidade (HR), síntese de H₂O₂, segundo Iriti & Faoro (2003) e aumentos nas atividades das peroxidases, segundo Xue et al. (1998) e quitinases e β-1,3-glucanases, segundo Mauch & Staehelin (1989), Dann et al. (1996) e Xue et al. (1998).

Objetivou-se neste trabalho avaliar os fosfitos na proteção e na indução de resistência do feijoeiro contra antracnose.

2 Referencial Teórico

2.1 A cultura do feijoeiro

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta anual, herbácea, pertencente à família Leguminosae, originária da América Latina, onde são encontradas formas selvagens em diferentes áreas (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina-EPAGRI, 2006). O feijoeiro comum é a espécie mais cultivada entre as demais do gênero *Phaseolus*. Cultivado por pequenos e grandes produtores, em diversificados sistemas de produção e em todas as regiões brasileiras, o feijoeiro comum reveste-se de grande importância econômica e social. O cultivo dessa leguminosa é bastante difundido em todo o território nacional, consorciado com outras culturas ou não. É reconhecida como cultura de subsistência em pequenas propriedades (Yokoyama, 2008).

O maior consumo deste produto é verificado nas Américas (41,7%), Ásia (34,2%), África (18,6%), Europa (3,8%) e Oceania (0,1%). Os países em desenvolvimento são responsáveis por 87,1% do consumo mundial e por 89,8% da produção (Food and Agricultural Organization-FAO, 2008).

O Brasil apresentou-se como o maior produtor mundial de feijão, em 2007 a produção foi de 3.277.000 toneladas (IBGE, 2008), seguido em ordem decrescente de produção pela Índia, China, Mianmar, México e Estados Unidos (Freyesbelen, 2005).

O feijão é produzido em todos os Estados Brasileiros. Os principais Estados produtores são: Paraná, Minas Gerais, Bahia, São Paulo e Goiás (IBGE, 2008). Segundo o IBGE (2008) o aumento de produção entre as safras 2000/2001 e 2007/2008 foi de 22% em cima de 2.587.000 toneladas. Apesar desse aumento a produção ainda está aquém do seu potencial genético devido a

diversas enfermidades de ordem biótica e abiótica que acometem o feijoeiro, os problemas fitossanitários que trazem perdas da qualidade e da produtividade dos grãos. Entre as doenças que afetam a cultura do feijoeiro comum, destaca-se a antracnose (Sartorato et al., 2008). Essa doença encontra-se largamente distribuída no mundo, particularmente nos países de clima temperado. No Brasil, tem causado problemas nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Bahia, Goiás e Rio Grande do Sul, principalmente em épocas e locais em que prevalecem condições de temperatura amena e alta umidade (Sartorato & Rava, 1994).

2.2 Antracnose do feijoeiro

O agente causal da antracnose do feijoeiro é *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib., pertencente à classe Deuteromycetes, ordem Melanconiales, família Melanconiaceae. As perdas atribuídas a antracnose podem chegar a 100% (Chaves et al., 1980; Peloso, 1992; Bianchini et al., 2005). No estado de Minas Gerais é uma das mais importantes doenças, principalmente nas regiões Sul e Zona da Mata, devido a ocorrência de alta umidade e temperatura moderada, porém nas regiões quentes, como Norte, Noroeste e Leste do Estado não chega a ser importante (Paula Júnior & Zambolim, 2006).

A antracnose quando presente no início do plantio é mais severa (Sartorato & Rava, 1994), afetando assim a qualidade das vagens e consequentemente dos grãos.

Segundo Sartorato et al. (2008), para o controle da maioria das doenças do feijoeiro comum, inclusive antracnose, deve-se utilizar, sempre que possível, uma combinação adequada de métodos. Entre os mais empregados, encontram-

se o controle químico e cultivares resistentes a um ou mais patógenos, desde que disponível. No entanto, para antracnose, a resistência genética é dificultada pelo fato do agente causal apresentar grande variabilidade patogênica. Já foram identificadas mais de 32 raças de *C. lindemuthianum* no Brasil (Bianchini et al., 2005). Esta grande variabilidade resulta, geralmente, em uma curta duração das variedades de feijoeiro resistentes em condições de campo. Já o controle químico, através de fungicidas, apresenta-se como alternativa para o controle de doenças de plantas, devido aos resultados satisfatórios de sua aplicação. Contudo, estes produtos podem ser perigosos se forem usados de forma incorreta, causando a contaminação do solo, água e do próprio homem, entre outros problemas. No Brasil, estima-se que cerca de 150 mil a 200 mil trabalhadores se contaminam com agrotóxicos todos os anos (Quintela & Ferreira, 2008). Assim, segundo Talamini & Stadnik (2004), devido às conseqüências do uso indiscriminado de agrotóxicos na agricultura é necessário investigar o potencial de outros produtos no controle de doenças de plantas.

2.2.1 Etiologia do *Colletotrichum lindemuthianum*

A fase imperfeita do fungo mundialmente conhecida do agente causal da antracnose é *C. lindemuthianum*. Possui micélio septado e ramificado que à medida que vai envelhecendo sua coloração varia de hialina a quase negra (Sartorato & Rava, 1994). Os conídios são hialinos, unicelulares, oblongos a cilíndricos, apresentam as extremidades arredondadas ou uma delas pontiaguda. Medem de 4,4 a 5,3 μ de largura por 13 a 22 μ de comprimento. Quando um conídio germina pode emitir de um a quatro tubos germinativos, frequentemente dois que formam apressórios em seus ápices por ocasião da penetração em seu hospedeiro. Os conídios são produzidos nos acérvulos que são os corpos de

frutificação do patógeno. Quando as condições são favoráveis ao patógeno, ele esporula abundantemente formando uma massa de conídios de coloração rósea (Sartorato & Rava, 1994). Por vezes as setas podem ser encontradas no hospedeiro. Estas setas, produzidas entre os conidióforos ou nas margens dos acérvulos, são pontiagudas, rígidas, septadas, de coloração castanha e seu comprimento varia de 30 a 100 μ . Os conidióforos são hialinos, eretos, sem ramificações e medem de 40 a 60 μ de comprimento (Sartorato & Rava, 1994).

Em sua fase perfeita ou sexual, o fungo pertence à classe dos Ascomycetos e à ordem Diaportales, conhecido como *Glomerella cingulata* (Ston.) Spauld & Scherenk f. sp. *phaseoli* Kimati. Produz peritécio mais ou menos arredondado variando de 120 a 210 μ de diâmetro. A parede do peritécio é inicialmente hialina e a medida que envelhece torna-se enegrecida a partir do ápice. Em média 30 ascos que medem 60 por 8 μ , com o comprimento que varia de 48 a 68 μ são envolvidos por paráfises filiformes e delicadas, que evanescem a partir do vigésimo sétimo dia. Possui dois tipos de ascósporos: alantóides (20 por 6,5 μ) e elipsoidais (10 por 4 μ). Cada asco possui de um a oito ascósporos alantóides ou oito ascósporos elipsoidais (Sartorato & Rava, 1994).

2.2.2 Sintomatologia da antracnose

Os sintomas da antracnose podem ser verificados em todas as partes da planta. O hipocótilo das plântulas é infectado normalmente por esporos levados das lesões cotiledonares, as mesmas atingem tamanho considerável, começando por uma diminuída mancha que gradualmente cresce no caule, no sentido longitudinal. No final as lesões tornam-se deprimidas e de coloração marrom-escura (Sartorato & Rava, 1994; Paula Júnior & Zambolim, 2006).

As lesões no caule e no pecíolo são geralmente ovaladas, deprimidas e de coloração escura. Quando as condições são favoráveis ao desenvolvimento do fungo, as lesões da base do caule crescem, enfraquecendo-o e tornando-o incapaz de suportar a copa da planta (Sartorato & Rava, 1994; Paula Júnior & Zambolim, 2006).

As lesões nas folhas ocorrem inicialmente na face abaxial, ao longo das nervuras, como pequenas manchas de cor parda-avermelhada, posteriormente tornam-se de cor café-escura a negra. A infecção ocorre tanto nas nervuras principais quanto nas secundárias. Em infecções severas há formação de manchas necrosadas nos tecidos adjacentes às nervuras (Sartorato & Rava, 1994; Paula Júnior & Zambolim, 2006).

Nas vagens as lesões são arredondadas, deprimidas, de tamanho variável, com o centro claro, delimitado por um anel negro levemente protuberante que geralmente se acha rodeado de coloração café-avermelhada. As lesões podem coalescer e cobrir parcialmente as vagens. Com condições de umidade e temperatura favoráveis há formação de massa de esporos de coloração rosada no centro das lesões (Sartorato & Rava, 1994; Paula Júnior & Zambolim, 2006).

O patógeno ao afetar as sementes, ao atravessar o tegumento, pode produzir desde uma leve descoloração até lesões nos tecidos dos cotilédones. Estas lesões são cancrios ligeiramente deprimidos e de tamanho variado. As sementes afetadas, geralmente são descoloridas, podendo apresentar cancrios cuja coloração varia de amarelo a café-escura a negra (Sartorato & Rava, 1994).

2.2.3 Epidemiologia

O patógeno sobrevive na forma de esporos ou em restos de cultura, de uma estação para outra ou de um cultivo para outro, como micélio dormente

dentro do tegumento da semente, nas células dos cotilédones. É transmitido a longas distâncias via sementes contaminadas e a curtas distâncias via respingos de água da chuva, irrigação e ventos. Ainda pode ser disseminado pelo homem, ao caminhar pela lavoura; pelos insetos; implementos agrícolas e animais (Sartorato & Rava, 1994; Paula Júnior & Zambolim, 2006).

Sob condições favoráveis ao patógeno, a germinação dos conídios corre num período de seis a nove horas, quando se forma o tubo germinativo. Quando em contato com o hospedeiro, o tubo germinativo forma o apressório, que se liga a superfície foliar do hospedeiro através de uma substância gelatinosa. Mecanicamente, o patógeno penetra no hospedeiro através da cutícula e epiderme, por meio de uma hifa que se desenvolve a partir do apressório. Após a penetração, a hifa aumenta de tamanho e cresce entre as paredes celulares e o protoplasto. Dias após, as paredes celulares se degeneram, provavelmente pela ação da enzima α -galactosidase e o protoplasto morre, produzindo lesões com sintomas de encharcamento. Com o crescimento do micélio debaixo da epiderme, há produção de cavidades e com o rompimento da cutícula do hospedeiro, transforma-se em acérvulos que contém de 3 a 50 conidióforos (Sartorato & Rava, 1994).

Temperaturas situadas entre 13 e 27°C são favoráveis ao desenvolvimento da doença, entretanto a ótima é de 17°C, quando verificadas conjuntamente com altas umidades. Ao passo que temperaturas acima de 30°C e abaixo de 13°C são desfavoráveis a infecção e desenvolvimento do fungo. Já nas vagens, se verifica esporulação abundante quando a temperatura se situa entre 14 e 18°C (Sartorato & Rava, 1994).

2.3 Indução de resistência de plantas à patógenos

A indução de resistência é um fenômeno muito comum na natureza, onde alguns tipos de estresses ou uma pré-infecção com um patógeno, tornam as plantas mais resistentes à infecção subsequente por outros patógenos e consiste no tratamento com agentes bióticos ou abióticos, ativando mecanismos de defesa da planta ou parte desta contra o ataque de patógenos (Agrios, 2005; Bonaldo et al., 2005). Trata-se de uma interação extremamente específica, regulada entre os genes de avirulência do patógeno e o gene guarda da planta, ativando sinais responsáveis pela transcrição de proteínas envolvidas na resistência (Dangl & Jones, 2001; Edreva, 2004). Uma das características essenciais da indução de resistência é que esta se baseia na expressão de informações genéticas latentes e não na alteração de informações genéticas das plantas, mediada por alterações genômicas (Kúc, 2001).

A indução de resistência é um método eficiente e alternativo para a proteção de plantas e mostra-se menos agressivo à saúde humana e ao equilíbrio de agroecossistemas (Stadnik & Maraschin, 2004), sendo também considerada uma proposta promissora no controle de várias doenças, podendo ser efetiva contra diversos patógenos, incluindo vírus, bactérias, nematóides e fungos (Bonaldo et al., 2005).

O aumento dos níveis de resistência da planta, como uma consequência da ativação de seus genes ou grupos de genes aparentemente inativos, usando agentes externos, sem a modificação do genoma da planta, é conhecido como resistência induzida (Stadnik & Maraschin, 2004). Esta ocorre de maneira não-específica, por meio da ativação de genes que codificam para diversas respostas de defesa, tais como proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP), por exemplo, quitinases e glucanases (Loon, 1997; Oliveira et al., 2004; Bonaldo et al., 2005).

As substâncias capazes de ativar respostas de defesa nas plantas, conhecidas como eliciadores, atuam como indutores ou ativadores de resistência em plantas (Sticher et al., 1997). Os indutores podem ser usados na exploração de mecanismos de defesa por agirem diretamente como moléculas sinais ou induzirem a ativação de genes que codificam a síntese de fatores de resistência (Métraux, 2001). Os genes de resistência estão associados com o incremento do ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno (Feys & Parker, 2000; Jalali et al., 2006). A resistência sistêmica induzida e a resistência sistêmica adquirida são descritas em alguns trabalhos de forma distinta. A resistência sistêmica adquirida (SAR) desenvolve-se de forma sistêmica em resposta a um patógeno que causa uma lesão necrótica (reação de hipersensibilidade) ou por aplicação de indutores bióticos ou abióticos. Confere uma proteção efetiva contra um amplo espectro de patógenos, é dependente do ácido salicílico e está associada à produção de proteínas-RP (Loon et al., 1998; Durrant & Dong, 2004). A resistência sistêmica induzida (SIR) geralmente é proporcionada por rizobactérias, não envolve o acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese e é independente do ácido salicílico. Em substituição ao ácido salicílico, é ativada pelo aumento dos níveis de ácido jasmônico e etileno (Loon et al., 1998; Feys & Parker, 2000; Grüner et al., 2003; Bonaldo et al., 2005; Glazebrook, 2005).

A expressão da resistência induzida pode ser local, ou ainda sistêmica, quando ela se expressa em locais não expostos diretamente ao agente indutor. O fenômeno da indução de resistência pode ser desencadeado utilizando-se tanto eliciadores bióticos quanto abióticos (Heil, 2001) e produtos químicos como os benzothiadiazole (BHT), ácido β -aminobutírico (BABA), ácido salicílico etc. (Cohen, 2001).

Para agentes bióticos a pré-inoculação com patógenos avirulentos ou virulentos, assim como fungos saprofitos, podem induzir resistência local e sistêmica a patógenos de diversas plantas (Steiner & Schönbeck, 1995; Anfoka

& Buchenauer, 1997). Porém, geralmente o efeito sistêmico é mais fraco que o efeito local (Hwang & Heitefuss, 1982).

A resistência é resultante da expressão gênica, cujo produto encontra-se relacionado a mecanismos estruturais e/ou bioquímicos. O espessamento da parede celular e cutícula, via aumento da deposição de lignina, cutina e formação de papilas (Sugui, 1998), tiloses e camadas de cortiças são exemplos de fatores de resistência estruturais. A nível bioquímico, os mecanismos de resistência compreendem uma série de metabólitos secundários, sendo que sua natureza química apresenta-se extremamente complexa, envolvendo diversas classes de compostos de baixo peso molecular, tais como alcalóides, flavonóides, glicosídeos e lactonas (Stadnik & Maraschin, 2004).

Entretanto, para que ocorra o processo de sinalização desenvolvido por células vegetais para perceber e responder a estímulos intrínsecos e/ou extrínsecos mostram-se análogas as dos animais, embora possua características estruturais e funcionais particulares e pode ser dividido em três etapas básicas: **1) a percepção do sinal**, ou reconhecimento, realizada por receptores celulares específicos ou inespecíficos que reconhecem um determinado sinal; **2) a transdução do sinal**, que consiste na transmissão do mesmo para seu sítio de ação dentro da célula, podendo ser feita de forma direta ou indireta (via mensageiros secundários, alterações na fosforilação de proteínas e através da proteína-G e **3) a tradução do sinal**, que consiste na conversão do sinal em respostas celulares específicas (Côté et al., 1995).

2.4 Fosfitos como indutores de resistência

Os fosfitos são produtos líquidos originados da neutralização do ácido fosforoso (H_3PO_3) por uma base, que podem ser hidróxido de sódio, hidróxido

de potássio, hidróxido de amônio entre outros, sendo o hidróxido de potássio o mais utilizado, formando o fosfito de potássio, que possuem excelentes qualidades sanitárias, com atividade fungicida, atuando diretamente sobre os fungos ou ativando o mecanismo de defesa das plantas (Reuveni, 1997).

O fosfito, na forma de sal de potássio, parece ter o mesmo efeito que o Fosetyl-Al ('Aliete'), fungicida recomendado para o controle de Oomicetos com *Pythium* spp. e *Phytophthora* spp. O Fosetyl-Al é constituído de três moléculas de etil fosfonato ligadas ao alumínio, que neutralizam suas cargas negativas. O fosfito é liberado pela hidrólise do etil fosfonato, conferindo à planta a proteção contra fungos patogênicos (McDonald et al., 2001). Processo análogo parece ocorrer para o fosfito de potássio (Fenn & Coffey, 1989; Niere et al., 1994).

Segundo Guest & Grant (1991), o fosfito de potássio inibe o crescimento dos esporos dos fungos, agindo como uma toxina direta sobre o patógeno, podendo ser eficiente para controlar varias espécies de *Phytophthora*. Os fosfitos também possuem ação indireta no controle de patógenos, estimulando a formação de fitoalexinas, uma substância natural de auto defesa da planta (Dercks & Creasy, 1989).

Os fosfitos apresentam rápida absorção pelas raízes, folhas e córtex do tronco, com menor exigência de energia da planta, são ainda bons complexantes, favorecendo a absorção de K, Ca, B, Zn, Mo, Mn, entre outros nutrientes. As misturas permitidas com outros produtos e algumas formulações de fosfitos podem reduzir o pH da solução, melhorando a eficiência de alguns herbicidas (Vitti et al., 2005).

O uso de formulações à base de fosfito de potássio tem sido alvo de constantes estudos em várias instituições de pesquisa no Brasil, em culturas como uva, nectarina, manga, rosas, pepino, citros, café, hortaliças, algodão, trigo e soja (Irving & Kuc, 1990; Mucharromah & Kuc, 1991; Reuveni et al., 1996).

Bécot et al. (2000) utilizando Phytogard®, uma solução líquida contendo 58% de fosfito de potássio (K_2HPO_3), observaram alto nível de proteção contra oídio em crucíferas, de maneira dependente da dose utilizada. Outra observação importante é que a proteção restringiu-se apenas aos tecidos tratados, não havendo resposta sistêmica. Smillie et al. (1989) sugerem que plantas tratadas com fosfito são capazes de produzir compostos antimicrobianos de forma mais efetiva que as não tratadas. Brackman et al. (2004) realizaram trabalhos para o controle do míldio da videira e também nas podridões pós-colheita em maçãs, segundo eles frutos de maçã tratados com fosfito de potássio (250 mL/100L) + $CaCl_2$ (2%) apresentaram menor incidência de podridões e menor diâmetro de lesões.

3 Referências Bibliográficas

AGRIOS, G.N. (Ed.). **Plant pathology**. 5.ed. Amsterdam: Elsevier Academic, 2005. 922p.

ANFOKA, G.; BUCHENAUER, H. Systemic acquired resistance in tomato against *Phytophthora infestans* by pre-inoculation with tobacco necrosis virus. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.50, n.2, p.85-101, Feb. 1997.

BÉCOT, S.; PAJOT, E.; LE CORRE, D.; MONOT, C.; SILUÉ, D. Phytogard (K_2HPO_3) induces localized resistance in cauliflower to downy mildew of crucifers. **Crop Protection**, Guildford, v.19, n.6, p.417-425, July 2000.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2, p.333-349.

BIGIRIMANA, J.; HÖFTE, M. Induction of systemic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in bean by a benzothiadiazole derivative and rhizobacteria. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.30, n.2, p.154-168, Jun. 2002.

BRACKMAN, A.; GIEHL, R.F.H.; SESTARI, I.; STEFFENS, C.A. Fosfito para o controle de podridões pós-colheita em maçãs 'Fuji' durante o armazenamento refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, p.1039-1042, jul./ago. 2004.

BONALDO, M.B.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.11-28.

CAVALCANTI, L.S.; BRUNELLI, K.R.; STANGARLIN, J.R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.81-124.

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

- COHEN, Y. The BABA story of induced resistance. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.29, n.5, p.375-378, Oct. 2001.
- CÔTÉ, F.; CHEOG, J.J.; ALBA, R.; HAHN, M.G. Characterization of binding proteins that recognize oligoglucoside elicitors of phytoalexins in soybean. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.93, n.2, p.401-410, Apr. 1995.
- DANGL, J.; JONES, J.D.G. Plant pathogens and integrated defense responses to infection. **Nature**, London, v.411, n.68, p.826-833, 2001.
- DANN, E.K.; DEVERALL, B.J. Effectiveness of systemic resistance in bean against foliar and soilborne pathogens as induced by biological and chemical means. **Plant Pathology**, London, v.44, n.3, p.458-466, Apr. 1995.
- DANN, E.K.; MEUWLY, P.; MÉTRAUX, J.P.; DEVERALL, B.J. The effect of pathogen inoculation or chemical treatment on activities of chitinase and β -1,3-glucanase and accumulation of salicylic acid in leaves of green bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.49, n.5, p.307-319, Oct. 1996.
- DERCKX, W.; CREASY, L.L. Influence of fosetyl: al on phytoalexin accumulation in the *Plasmopara viticola*: grapevine interaction. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Orlando, v.34, n.3, p.203-213, Mar. 1989.
- DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.42, n.2, p.185-209, Mar. 2004.
- EDREVA, A. A novel strategy for plant protection: induced resistance. **Plant Journal for Cell and Molecular Biology**, Oxford, v.3, n.2, p.61-69, Apr. 2004.
- EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA. **Produção de feijão**. Disponível em: <<http://www.epagri.rct-sc.br/epagri/index.jsp>>. Acesso em: 2 set. 2008.
- FENN, M.E.; COFFEY, M.D. Quantification of phosphonate and ethyl phosphonate in tobacco and tomato tissues and significance for the mode of action do two phosphonate fungicides. **Phytopathology**, Saint Paul, v.79, n.3, p.76-82, Apr. 1989.
- FEYS, B.J.; PARKER, J.E. Interplay of signaling pathways in plant disease resistance. **Trends in Genetics**, Oxford, v.16, n.1, p.449-455, Jan. 2000.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. **Crop production by counties**. Disponível em: <<http://fao.org>>. Acesso em: 12 set. 2008.

FRYESBELEN, C.A. Feijão. In: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA. **Síntese anual da agricultura catarinense 2004 – 2005**. Florianópolis, 2005. p.80-104.

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.43, p.205-227, 2005.

GRÜNER, R.; STROMPENT, G.; PFITZNER, A.P.; PFITZNER, U.M. Salicylic acid and the hypersensitive response initiate distinct signal transduction pathways in tobacco that converge on the as-1-like element of the PR-1a promoter. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.270, n.6, p.4876-4886, June 2003.

GUEST, D.; GRANT, B.R. The complex action of phosphonates as antifungal agents. **Biological Reviews**, New York, v.66, n.6, p.159-187, Nov. 1991.

HAMMERSCHMIDT, D.; DANN, E.K. Induced resistance to disease. In: RECHCIGL, N.A.; RECHCIGL, J.E. (Ed.). **Environmentally safe approaches to crop disease control**. Boca Raton: CRC, 1997. p.177-199.

HEIL, M. The ecological concept of cost of induced systemic resistance (ISR). **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.107, n.1, p.137-146, Jan. 2001.

HWANG, B.K.; HEITEFUSS, R. Induced resistance of spring barley to *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*. **Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v.103, n.3, p.41-47, Feb. 1982.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário 2006**. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 20 set. 2008.

IRITI, M.; FAORO, F. Does benzothiadiazole-induced resistance increase fitness cost in bean? **Journal of Plant Pathology**, Bari, v.85, n.4, p.265-270, 2003. Special issue.

IRVING, H.R.; KUC, J. Local and Systemic induction of peroxidase, chitinase and resistance in cucumber plants by K_2HPO_4 . **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.37, n.4, p.355-366, May 1990.

JALALI, B.L.; BHARGAVA, S.; KAMBLE, A. Signal transduction and transcriptional regulation of plant defence responses. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.154, n.2, p.65-74, Mar. 2006.

KUC, J. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.107, n.1, p.7-12, Jan. 2001.

LOON, L.C. van. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.103, n.9, p.753-765, Sept. 1997.

LOON, L.C. van; BAKKER, P.A.H.M.; PIETERSE, C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.36, n.9, p.453-483, Oct. 1998.

MAUCH, F.; STAEHELIN, L.A. Functional implications of the subcellular localization of ethylene-induced chitinase and β -1,3-glucanase in bean leaves. **Plant Cell**, Baltimore, v.1, n.4, p.447-457, Sept. 1989.

McDONALD, A.E.; GRANT, B.R.; PLAXTON, W.C. Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v.24, n.1, p.1505-1519, Jan. 2001.

MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance and salicylic acid current state of knowledge. **European Journal Plant Pathology**, Dordrecht, v.107, n.1, p.8-13, Jan. 2001.

MUCHARROMAH, E.; KUC, J. Oxalates and phosphates induce systemic resistance against diseases caused by fungi, bacteria and viruses in cucumber. **Crop Protection**, Guildford, v.10, n.4, p.265-270, Aug. 1991.

NIERE, J.O.; DEANGELIS, G.; GRANT, B.R. The effect of phosphonate and acid-soluble phosphorus components in the genus *Phytophthora*. **Microbiology**, New York, v.140, n.7, p.1661-1670, Nov. 1994.

OLIVEIRA, S.M.A.; DANTAS, S.A.F.; GURGEL, L.M.S. Indução de resistência em doenças pós-colheita em frutas e hortaliças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.12, n.3, p.343-371, Apr. 2004.

PAULA JÚNIOR, T.J. de; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão**. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. p.360-414.

PELOSO, M.J. Antracnose do feijoeiro no Estado de Minas Gerais-Brasil. In: PASTOR-CORRALES, M.A. (Ed.). **La antracnosis del frijol común, Phaseolus vulgaris, em América Latina**. Cali: CIAT, 1992. p.212-239. (Doc. de trabajo, 113).

QUINTELA, E.D.; FERREIRA, E. **Sistemas de produção**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em: 2 set. 2008.

REUVENI, M. Post-infection applications of K₃PO₃, phosphorous acid and dimethomorph inhibit development of downy mildew caused by *Plasmopara viticola* on grapes. **Journal of Small Fruit & Viticulture**, Binghamton, v.5, n.2, p.27-38, Apr. 1997.

REUVENI, R.; REUVENI, M.; AGAPOV, V. Foliar sprays of NPK fertilizer induce systemic protection against *Puccinia sorghi* and *Exserohilum turcicum* and growth response in maize. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.102, n.2, p.339-348, Apr. 1996.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. Antracnose. In: SARTORATO, A.; RAVA, C.A. (Ed.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p.17-39.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A.; FARIA, J.C. de. **Sistemas de produção**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em: 2 set. 2008.

SMILLIE, R.; GRANT, B.R.; GUEST, D. The mode of action of phosphate: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp. in plants. **Phytopatology**, Saint Paul, v.79, n.9, p.921-926, Jan. 1989.

STADNIK, M.J.; MARASCHIN, M. Indução de resistência de plantas a fitopatógenos. In: STADNIK, M.J.; TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. p.221-244.

STEINER, U.; SCHÖNBECK, F. Induced disease resistance in monocots. In: HAMMERSMIDT, R.; KUC, J. (Ed.). **Induced resistance to disease in plants**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1995. p.86-110.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.35, n.3, p.235-270, Feb. 1997.

SUGUI, J.A. **Estudos de matrizes extracelulares secretadas pelos fungos *Cochliobolus heterostrophus*, *Colletotrichum graminicola* e *Pestalotia malicola***. 1998. 127p. Tese (Doutorado em Bioquímica)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

TALAMINI, V.; STADNIK, M.J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: _____. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. p.45-62.

VITTI, G.C.; LUZ, P.H.C.; OTTO, R.; QUEIROS, F.E.C.; PACKER, L.A. Utilização de fosfito em cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE CANA-DE-AÇUCAR, 1., 2005, Piracicaba. **Resumos...** Campinas: Intercuf, 2005. p.17.

XUE, L.; CHAREST, P.M.; JABAJI-HARE, S.H. Systemic induction of peroxidase, β -1,3-glucanase, chitinase, and resistance in bean plants by binucleate *Rhizoctonia* species. **Phytopathology**, Lancaster, v.88, n.4, p.359-365, Jan. 1998.

YOKOYAMA, L.P. **Sistemas de produção**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em: 2 set. 2008.

CAPÍTULO 2: Fosfitos no controle da antracnose do feijoeiro em casa-de-vegetação

Resumo¹

O feijão é uma cultura de grande importância tanto econômica quanto social na alimentação mundial, pois representa uma fonte barata e rica fonte de proteínas. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de três fosfitos de potássio (5mL/L), fosfito de zinco (5mL/L), fosfito de cobre (5mL/L), fosfito de manganês (5mL/L), fosfito de manganês + potássio (5mL/L), fosfito de potássio + ácido salicílico (5mL/L), ácido salicílico (AS - 0,25g/L), acibenzolar-S-metil (ASM - 0,0625g/L), Agro-Mos® (3mL/L) e o fungicida amistar (0,3g/L) no controle da antracnose do feijoeiro cultivar BRS Majestoso em condição de casa de vegetação no Campus da Universidade Federal de Lavras. Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados com três repetições. Entre os diferentes indutores, os fosfitos de potássio (1, 2 e 3) e de manganês reduziram a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em 81, 80, 74 e 77%, respectivamente, quando comparados à testemunha. O fosfito de manganês condicionou a menor severidade comparado aos demais tratamentos.

Palavras chave: Feijoeiro, *Colletotrichum lindemuthianum*, Fosfitos, Acibenzolar-S-metil, ácido salicílico e Agro-Mos®.

Abstract¹

Beans culture has a great importance economical as social in the world feeding, because it represents a cheap source and rich source of proteins. This work had as objective evaluate the effect of three potassium phosphites (5mL/L), zinc phosphite (5mL/L), copper phosphite (5mL/L), manganese phosphite (5mL/L), manganese + potassium phosphite (5mL/L), potassium phosphite + salicylic acid (5mL/L), salicylic acid (AS - 0,25g/L), acibenzolar-S-methyl (ASM - 0,0625g/L), Agro-Mos® (3mL/L) and the fungicide amistar (0,3g/L) in the control of the anthracnose of the bean plant cultivars BRS Majestoso in condition of greenhouse at the Campus of the Federal University of Lavras. A randomized blocks with three repetitions was used. Among the different inductors, the potassium fosfitos (1, 2 and 3) and of manganese they reduced the area below the curve of progress of the disease (AACPD) in 81, 80, 74 and 77%, respectively, when compared to the witness. The manganese phosphite conditioned the smallest severity compared to the other treatments.

Keywords: Bean plant, *Colletotrichum lindemuthianum*, Phosphites, Acibenzolar-S-methyl, salicylic acid and Agro-Mos®.

1 Introdução

A antracnose, causada por *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magn.) Lams.-Scrib., é considerada uma das doenças mais graves da cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Brasil, uma vez que pode ocorrer em toda parte aérea da planta e ao encontrar condições favoráveis, causar grandes danos na produção (Zambolim & Chaves, 1978). A antracnose prevalece principalmente em regiões de temperaturas moderadas a frias, com alta umidade relativa do ar. Há relatos de perdas consideráveis devido a esta doença em diversos países da América Central, América do Sul, África e Ásia. Em regiões favoráveis ao seu desenvolvimento, as perdas podem chegar até 100% quando se utilizam sementes infectadas pelo patógeno (Guzman et al., 1979; Chaves et al., 1980). Os danos são maiores quanto mais precoce for o aparecimento da doença na lavoura. Além de diminuir o rendimento da cultura, a antracnose deprecia a qualidade do produto por ocasionar manchas nos grãos, tornando-os impróprios para o consumo (Sartorato & Rava, 1994).

Como medida de controle da antracnose é preconizada a adoção de práticas culturais, que incluem o uso de sementes livres do patógeno, de produtos químicos e variedades resistentes (Shao & Teri, 1985; Sartorato, 1988). O controle químico tem sido aliado aos demais métodos, proporcionando controle das doenças e aumento na produtividade (Ito et al., 2001).

O uso indiscriminado de produtos químicos causa sérios problemas de contaminação tanto ambiental quanto do aplicador, portanto, a indução de resistência (IR) tem se mostrado um método eficiente no controle de várias doenças. Produtos tais como ácido salicílico (AS), acibenzolar-S-metil (ASM), fragmentos e peptídeos da parede celular de patógenos no controle de fungos, bactérias, vírus e nematóides (Bonaldo et al., 2005).

Diante dos produtos usados para indução de resistência se encontram os fosfitos, que apesar de serem considerados adubos, devido a sua incompleta oxidação, apresentam maior solubilidade e absorção que os fosfatos, bem como provocam efeitos únicos sobre metabolismo das plantas (Lovatt & Mikkelsen, 2006). Seu efeito no controle de doenças tem sido observado contra espécies de Oomycetes, como *Phytophthora* em pimentão e *Plasmopara viticola* em videira (Foster et al., 1998; Galvão et al., 2006). Vários trabalhos vêm comprovando a eficiência dos fosfitos no controle do míldio da videira (Dalbó & Schuck, 2003; Sônego et al., 2003; Galvão et al., 2006).

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito dos fosfitos de potássio, zinco, cobre, manganês, manganês + potássio, potássio + ácido salicílico, ácido salicílico, acibenzolar-S-metil e Agro-Mos® no controle da antracnose do feijoeiro cv. BRS Majestoso em condição de casa de vegetação.

2 Material e Métodos

2.1 Obtenção de plantas de feijoeiro

O ensaio foi instalado e conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, no período de maio a julho de 2009. Sementes de feijão, cultivar BRS Majestoso do grupo carioca, suscetível à antracnose, foram cultivadas em casa de vegetação, em vasos de polietileno de 3L, contendo terra: areia:esterco bovino (2:1:1) adubados com 5g de NPK (4:14:8). Foram plantadas cinco sementes de feijão por vaso e, 15 dias após a emergência, foi realizado o desbaste mantendo-se apenas três plântulas mais vigorosas e homogêneas.

2.2 Obtenção e preparo do inóculo de *Colletotrichum lindemuthianum*

Para obtenção do inóculo, uma colônia pura em meio M3 de *C. lindemuthianum*, raça 65 LV 81, cedida pelo Laboratório de Resistência de Plantas do Departamento de Biologia da UFLA, foi multiplicada em vagens jovens de feijoeiro, em tubos de ensaio, contendo meio ágar-água e mantidos em câmara de crescimento do tipo BOD a $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 10 dias. Inicialmente, os tubos de ensaio foram autoclavados por dois dias durante 1 hora a 120°C e no terceiro dia, foi realizada a inoculação nas vagens por meio de um disco de micélio. Após a plena esporulação, para obtenção da suspensão de conídios, adicionou-se água destilada aos tubos de ensaio e os mesmos foram agitados e a suspensão obtida foi filtrada em gaze dupla. A quantificação dos conídios foi realizada com ajuda da câmara de contagem Neubauer e ajustada para concentração de 1×10^6 conídios/mL.

A inoculação foi realizada aos 45 dias após a semeadura, no estágio R6, por meio de pulverização da suspensão de inóculo até o ponto de escorrimento. Após a inoculação, os vasos com as plantas foram cobertos por sacos plásticos transparentes, por um período de 14 h, para proporcionar uma câmara úmida e favorecer a penetração e colonização pelo fungo.

2.3 Tratamentos

Os produtos utilizados e as respectivas dosagens estão descritos na Tabela 1. Foram realizadas três pulverizações foliares dos produtos, a primeira no estágio de desenvolvimento V4 (terceiro trifólio), a segunda no R5 (pré-floração) e a terceira no R7 (formação das vagens) com auxílio de pulverizadores manuais, até o ponto de escorrimento.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados (DBC), com três repetições, sendo a parcela experimental constituída de seis plantas, dois vasos contendo três plantas cada.

TABELA 1 Fosfitos avaliados para proteção do feijoeiro carioca cv. BRS Majestoso contra *C. lindemuthianum* em casa de vegetação

Tratamentos ¹	Nome comercial	Composição	Dose	Empresa
fosf. K1	Reforce [®]	340 g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ e 240 g L ⁻¹ de K ₂ O	5ml L ⁻¹	Agrichem do Brasil Ltda
fosf. Zn	Reforce [®] Zn	340 g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ e 100 g L ⁻¹ de Zn	5ml L ⁻¹	Agrichem do Brasil Ltda
fosf. Mn	Reforce [®] Mn	510 g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ e 97 g L ⁻¹ de Mn	5ml L ⁻¹	Agrichem do Brasil Ltda
fosf. Mn + K1	Reforce [®] Mn + K	510 g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ , 97 g L ⁻¹ de Mn e 240 g L ⁻¹ de K ₂ O	5ml L ⁻¹	Agrichem do Brasil Ltda
fosf. K1 + AS.	Reforce [®] +AS	34 g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ , 24 g L ⁻¹ de K ₂ O e 5% de ácido salicílico	5ml L ⁻¹	Agrichem do Brasil Ltda.
fosf. K2	Nutriphite [®]	434,28 g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ e 403,26 g L ⁻¹ de K ₂ O	5ml L ⁻¹	Iharabras S.A.
fosf. K3	Pepfós [®]	420g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ e 280 g L ⁻¹ de K ₂ O	5ml L ⁻¹	Pepita Fertilizantes Ltda
fosf. Cu	Fulland [®]	268g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ e 53,6g L ⁻¹ de Cu	5ml L ⁻¹	Sudoeste Agropecus Indústria e Comércio Ltda
test.	-----	-----	-----	-----
AS	ácido salicílico	ácido salicílico P.A.	0,25g L ⁻¹	Merck
ASM	Bion	50% de acibenzolar-S-metil	0,0625g L ⁻¹	Syngenta Proteção de Cultivos
Manan	Agro-Mo [®] s	Mananoligossacarídeo fosforilado, 35g/L Cu, 27,5g/L S, 25g/L Zn	3ml L ⁻¹	Improcrop
fung.	Amistar	50% de azoxistrobina	0,3g L ⁻¹	Syngenta Proteção de Cultivos

¹ test: testemunha; fosf. K1: Fosfite de potássio 1; fosf. Zn: fosfite de zinco; fosf. Mn: fosfite de manganês; fosf. Mn + K1: fosfite de manganês + fosfite de potássio 1; fosf. K1 + ác. sal: fosfite de potássio 1 + ácido salicílico; fosf. K2: fosfite de potássio 2; fosf. K3: fosfite de potássio 3; fosf. Cu: fosfite cobre; AS: ácido salicílico; manan: mananoligossacarídeo; ASM: acibenzolar-S-metil; fung.: fungicida.

2.4 Avaliação da doença

Foram realizadas avaliações da severidade da antracnose a cada sete dias, com auxílio de escala de notas proposta por Godoy et al. (1997). A avaliação foi realizada nas seis plantas que compunham a parcela.

Após as avaliações, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para cada tratamento, seguindo a seguinte fórmula (Shaner & Finney, 1977):

$$\text{AACPD} = \sum_{i=1}^{n-1} ((Y_i + Y_{i+1}) / 2) * (t_{i+1} - t_i)$$

Em que:

AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença;

Y_i = proporção da doença na i -ésima avaliação;

t_i = tempo em dias da i -ésima avaliação

n = número de observações.

A análise da variância foi realizada no programa Sisvar[®] - versão 5.1 (Build 72) (Ferreira, 2000). Quando a variável foi significativa no teste F, as médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 Resultados e Discussão

Observou-se efeito significativo dos tratamentos no controle da antracnose do feijoeiro. O fosfito de potássio 1 (fosf. K1) com 81%, fosfito de potássio 2 (fosf. K2) com 80%, fosfito de manganês (fosf. Mn) com 77% e fosfito de potássio 3 (fosf. K3) com 74% de redução em relação à testemunha. Estes produtos proporcionaram maiores reduções da área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), porém semelhantes aos outros tratamentos, mas diferindo-se estatisticamente da testemunha, seguidos de redução moderada do fosfito de potássio 1 + ácido salicílico (fosf. K1 + AS) com 68%, fungicida com 68%, fosfito de zinco (fosf. Zn) com 63%, fosfito de cobre (fosf. Cu) com 61%, acibenzolar-S-metil (ASM) com 57%, fosfito de manganês + fosfito de potássio 1 (fosf. Mn + K1) com 48%, mananoligossacarídeo (manan) com 47% e ácido salicílico (AS) com 46% que não diferiram entre si e nem da testemunha (Figura 1A).

Observou-se na curva de progresso da severidade que o fosfito de manganês proporcionou menor severidade seguido dos outros fosfitos, do ASM, AS, manan, entretanto para o fungicida observou-se severidade maior que os outros tratamentos podendo ser explicado pelo fato do mesmo não ser sistêmico e residual mas sim curativo porém inferior à testemunha absoluta que apresentou maior severidade. Supõem-se que a baixa severidade observada foi devido a baixa temperatura observada ao longo do experimento, influenciado assim no desenvolvimento da doença (Figura 1B).

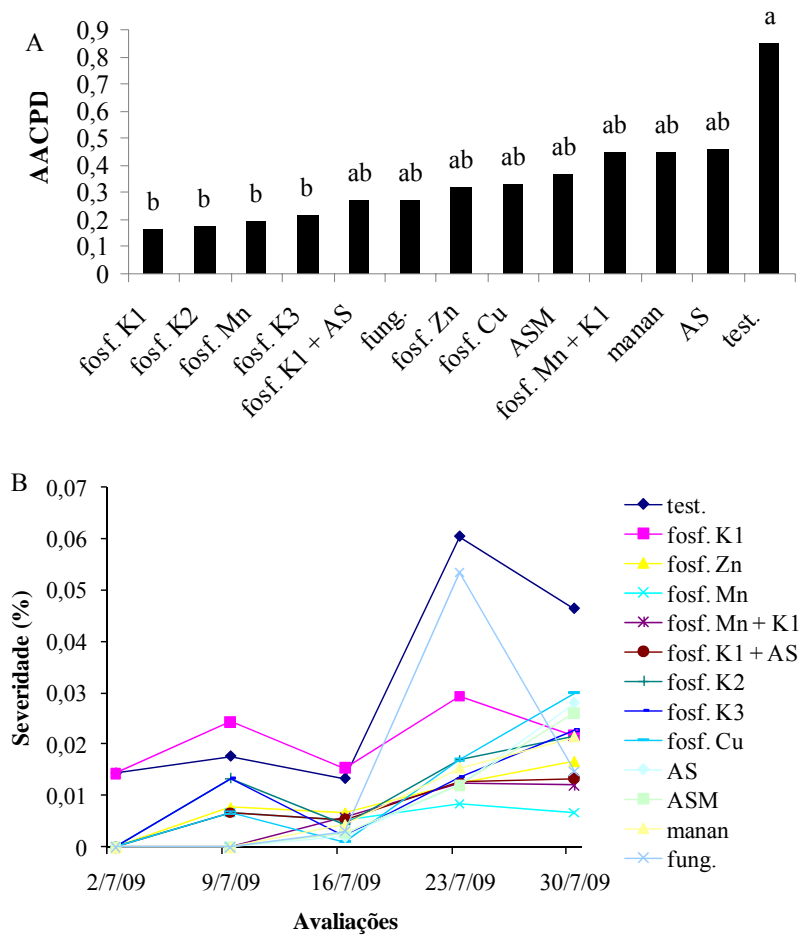


FIGURA 1 Efeito de fosfitos na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (A) e na curva de progresso da severidade (B) da antracnose do feijoeiro em cultivar BRS Majestoso. Tratamentos: test: testemunha; fosf. K1: Fosfito de potássio 1; fosf. Zn: fosfito de zinco; fosf. Mn: fosfito de manganês; fosf. Mn + K1: fosfito de manganês + fosfito de potássio 1; fosf. K1 + AS: fosfito de potássio 1 + ácido salicílico; fosf. K2: fosfito de potássio 2; fosf. K3: fosfito de potássio 3; fosf. Cu: fosfito cobre; AS: ácido salicílico; manan: mananoligossacarídeo; ASM: acibenzolar-S-metil; fung.: fungicida. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Resultados semelhantes que comprovam a eficiência dos fosfitos em outros patossistemas foram constatados por muitos autores, em particular o fosfito de potássio, porém ainda não existem relatos do mesmo no controle da antracnose do feijoeiro. Johri & Chaurasia (1998) observaram resultados semelhantes, aplicações foliares de fosfito de potássio controlavam a infecção de *Phytophthora palmivora* em betel (*Piper betle* L.). Já Opoku et al. (1998) também testaram o fosfito de potássio no controle da podridão-parda dos frutos no cacauero, injetando-se o mesmo nos caules das plantas a um metro do solo, onde verificaram a redução de 60% de incidência da doença, porém observaram rachaduras no caule no ponto da aplicação bem como extensos danos nos vasos do xilema e floema. Nascimento et al. (2008) verificaram em seus estudos que a maioria dos fosfitos testados apresentaram tendência de redução da severidade e incidência *X. campestris* pv. *Vesicatoria* e da *Erwinia spp*, respectivamente, porém os mesmos não tiveram efeito na produtividade do tomateiro. Os mesmos autores relatam que os fosfitos não foram eficientes no controle *P. infestans*, mesmo quando os mesmos eram aplicados semanalmente. Entretanto, Ribeiro Júnior et al. (2006) em seus estudos com mudas de cacauero vs *Verticillium dahliae* Kleb. relatam que não houve efeito significativo de doses de fosfito de potássio na AACPD em relação à testemunha inoculada, porém o ASM havia conferido 30% de proteção em relação à testemunha inoculada.

A baixa severidade observada neste estudo demonstra a eficiência dos fosfitos no controle da antracnose. Outros autores constataram o mesmo em outros patossistemas tais como Dianese et al. (2007) trabalhando com fosfito de potássio (10 % P_2O_5 + 6 % Ca – 400 mL/hL) constaram que uma aplicação do mesmo proporcionou a maior redução da severidade da podridão do pé do mamoeiro, mas quando se realizaram duas aplicações do fosfito de potássio 40 % P_2O_5 + 20 % K_2O - 150 mL/hL) foi o que melhor se destacou na redução da severidade. Sônego & Garrido (2005) trabalhando com uva cv. Cabernet

Sauvignon para o controle do míldio da videira concluíram que o fosfito de potássio (Fitofós K 0,3 %) proporcionou a menor severidade da doença tanto nas folhas quanto nos cachos. Os mesmos autores agora trabalhando com cultivar Merlot constaram que os fosfitos de potássio (Fitofós K Plus 0,3% e Hortifós PK 0,3% e 0,4%), aplicados a cada 7 ou 15 dias, se destacaram na diminuição da severidade do míldio. Resultados semelhantes foram observados por Peruch et al. (2007) em seu trabalho com o fosfito de potássio, ele diminuiu a severidade do míldio da videira cv. Niágara Branca em 71% em relação à testemunha.

O efeito positivo do fosfito de manganês na redução da severidade, quando comparada com a testemunha está em concordância com o resultado observado por Ribeiro Júnior (2008) em que observou a redução de 36% da severidade no patossistema cafeeiro *vs* cercosporiose.

4 Conclusões

Os fosfitos de potássio 1, 2, 3 e de manganês, (fosf. K1, fosf. K2 fosf. K3, e fosf. Mn) foram os que mais se destacaram dentre os demais com redução de 81, 80, 74% e 77%, respectivamente, na área abaixo da curva da doença (AACPD).

Todos os fosfitos proporcionaram baixas severidades, dentre estes se destaca o fosfito de manganês (fosf. Mn) que foi o melhor comparado aos demais tratamentos.

5 Referências Bibliográficas

BONALDO, M.B.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.11-28.

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

DALBÓ, M.A.; SCHUCK, E. Avaliação do uso de fosfitos para o controle do míldio da videira. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.16, n.3, p.33-35, out. 2003.

DIANESE, A.C.; BLUM, L.E.B.; DUTRA, J.B.; LOPES, L.F.; SENA, M.C.; FREITAS, L.F.; YAMANISHI, O.K. Redução da podridão do pé (*Phytophthora palmivora*) do mamoeiro (*Carica papaya*) por fosfitos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n.2, p.834-837, mar./abr. 2007.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 5.1. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

FOSTER, H.; ADASKAVEG, J.E.; KIM, D.H.; STANGHELLINI, M.E. Effect of phosphite on tomato and pepper plants and on susceptibility of pepper to phytophthora root and crown rot in hydroponic culture. **Plant Disease**, Saint Paul, v.82, n.10, p.1165-1170, Oct. 1998.

GALVÃO, S.; STADNIK, M.J.; PERUCH, L.A.M.; BRUNA, E.D. Avaliação da eficiência de produtos alternativos para o controle do míldio e da antracnose em videira, cultivar Niágara branca. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.19, n.2, p.91-93, jul. 2006.

GODOY, C.V.; CARNEIRO, S.M.T.P.G.; IMAUTI, M.T.; PRIA, M.D.; AMORIM, L.; BERGER, R.D.; BERGAMIN FILHO, A. Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Berne, v.104, n.4, p.336-345, Dec. 1997.

GUZMAN, P.; DONADO, M.R.; GALVES, G.E. Pérdidas econômicas causadas por la antracnosis del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Colombia. **Turrialba**, v.29, n.1, p.65-67, ene. 1979.

ITO, M.F.; CASTRO, J.L.; PETEROSI JUNIOR, N.; ZAMBON, S.; ITO, M.A. Trifenil hidróxido de estanho no controle de doenças do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.27, n.1, p.110, jan. 2001. Resumo.

JOHRI, J.K.; CHAURASIA, R.S.A. A phosphanate for management of betelvine *Phytophthora*. **National Academy Science Letters**, New Katra, v.21, n.7/8, p.237-239, Aug. 1998.

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

NASCIMENTO, A. dos R.; FERNANDES, P.M.; ROCHA, M.R. da; SILVA, E.A. da. Fontes de fosfito e acibenzolar-s-metil no controle de doenças e produtividade do tomateiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.24, n.1, p.53-59, jan./mar. 2008.

OPOKU, I.Y.; AKROFI, A.A.; LUTHERBACHER, M.C. Trunk injection of potassium phosphonate for the control of black pod disease of cocoa. **Tropical Science**, Kent, v.38, n.3, p.179-185, Mar. 1998.

PERUCH, L.A.M.; MEDEIROS, A.M. de; BRUNA, E.D.; STADINIK, M. Biomassa cítrica, extrato de algas, calda bordalesa e fosfitos no controle do míldio da videira, cv. Niágara Branca. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.6, n.2, p.143-148, 2007.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. 105p. Tese (Doutorado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V. de; PEREIRA, R.B.; CAVALCANTI, F.R.; AMARAL, D.R.; PÁDUA, M.A. de. Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* kleb., em mudas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.4, p.629-636, jul./ago. 2006.

SARTORATO, A. Antracnose. In: ZIMMERMANN, M.J.; ROCHA, M.; YAMAMADA, T. **Cultura do feijoeiro**: fatores que afetam a produtividade. Goiânia: Associação Brasileira para a Pesquisa de Potassa e de Fósforo, 1988. p.457-477.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. Mancha angular. In: _____. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p.41-68.

SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopatology**, Saint Paul, v.70, n.8, p.1183-1186, Aug. 1977.

SHAO, F.M.; TERI, J.M. Yield losses in Phaseolus bean induced by anthracnose in Tanzania. **Tropical Pest Management**, Basingstoke, v.31, n.1, p.60-62, Feb. 1985.

SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L. da R. **Avaliação da eficácia de algumas marcas comerciais de fosfito de potássio e de fosfonato de potássio no controle do míldio da videira**. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2005. 13p. (EMBRAPA Uva e Vinho. Circular Técnica, 60).

SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L. da R.; CZERMAINSKI, A.B.C. **Avaliação do fosfito de potássio (Fitofos K) no controle do míldio da videira**. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2003. 18p.

ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G.M. Doenças do feijoeiro e seu controle. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.4, n.4, p.50-63, Apr. 1978.

**CAPÍTULO 3: Fosfitos, ácido salicílico, acibenzolar-s-metil e azoxistrobina
no manejo da antracnose do feijoeiro em campo**

Resumo¹

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da aplicação de fosfitos de potássio (5mL/L), zinco (5mL/L), manganês (5mL/L) e potássio + AS (5mL/L), AS (0,25g/L), ASM (0,0625g/L) e do fungicida amistar (50% Azoxistrobina- 0,3g/L) no controle da antracnose do feijoeiro em condição de campo. O experimento foi conduzido na área experimental da Universidade Federal de Lavras com a cultivar BRS Majestoso. Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados com três repetições. Os fosfitos assim como o ASM e AS foram eficientes no controle da antracnose do feijoeiro. Os fosfitos de potássio, zinco e manganês e azoxistrobina proporcionaram menores severidades da doença, não diferindo entre si, porém se diferenciando da testemunha. Os produtos incrementaram a produtividade do feijoeiro comparados à testemunha.

Palavras chave: Feijoeiro, Antracnose, Fosfitos, Acibenzolar-S-metil, Ácido salicílico e Azoxistrobina.

Abstract¹

This work was accomplished with the objective of evaluate the effect of the application of potassium phosphites (5mL/L), zinc phosphites (5mL/L), manganese phosphites (5mL/L) and potassium phosphites + AS (5mL/L), AS (0,25g/L), ASM (0,0625g/L) and of the fungicide amistar (50% Azoxistrobin - 0,3g/L) in the control of the anthracnose of the bean plant in field condition. The experiment was conducted at the experimental area of Federal University of Lavras with cultivars BRS Majestoso. A randomized blocks with three repetitions was used. The phosphites as well as ASM and AS were efficient in the control of the anthracnose of the bean plant. The potassium, zinc and manganese phosphites and amistar provided the lowest severities of the disease, not differing to each other, however differing of the witness. The products increased the productivity of the bean plant compared to the witness.

Keywords: Bean plant, Anthracnose, Phosphites, Acinbenzolar-S-methyl, Salicylic acid and Azoxistrobin.

1 Introdução

Segundo o IBGE (2008) o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é produzido em todos os Estados Brasileiros, porém a produção não tem sido a desejada devido às várias enfermidades que atacam a cultura. Dentre estas, destaca-se a antracnose, causada por *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc.&Magn) Scrib. (Sartorato et al., 2008), patógeno este que está amplamente distribuído pelo mundo, principalmente em países de clima temperado, causando perdas de até 100% (Peloso, 1992).

O manejo desta doença é realizado principalmente pela aplicação de fungicidas com isso corre-se o risco de seleção de indivíduos resistentes pelo uso dos mesmos ingredientes ativos (Sartorato et al., 2008). Diante desta constatação, a indução de resistência vem ganhando espaço como sendo uma medida promissora de controle de doenças de plantas, por não apresentar especificidade no modo de ação e com isso, minimizar o risco de seleção de patógenos resistentes.

A indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de resistência latentes existentes nas plantas como resposta à tratamento com agentes bióticos ou abióticos, que são representados por barreiras estruturais ou bioquímicas (Uknes et al., 1996). Vários são os produtos usados alternativamente para o controle de doenças, se destacando acibenzolar-S-metil (ASM), produto análogo ao ácido salicílico, único produto comercial (Bion®) indutor de resistência registrado no Brasil. Foi verificada sua eficiência no controle de doenças no cacaueteiro, dentre estas a vassoura-de-bruxa causada por *Crinipellis pernicioso*, onde Resende et al. (2007), com redução de até 60,2% da incidência da doença em mudas da cv. Catongo. Já em mudas de cacaueteiro cv. Theobahia, os mesmos autores verificaram a redução de até 55,4% na severidade da murcha causada por *Verticillium dahliae*.

Outro produto citado na literatura como indutor de resistência e com ação direta contra patógenos é o fosfito. Esse produto é originado da neutralização do ácido fosforoso (H_3PO_3) por uma base. Seu uso pode induzir a produção de fitoalexinas, substâncias naturais de auto defesa das plantas (Dercks & Creasy, 1989; Reuveni, 1997). Como ação direta contra fungos, Ribeiro Júnior et al. (2006) verificaram que doses de 2,5 e 5,0 mL/L de fosfito de potássio inibiram a germinação de conídios de *Verticillium dahliae* em 0% e 1%, ao passo que nas doses de 0,62 e 1,25 mL/L a inibição foi de 35 e 21%, respectivamente. Já Moreira et al. (2002) verificaram que fosfito de potássio controlou aproximadamente 95% de *Monilinia fructicola* em pêssegos (*Prunus persicae*) em pós-colheita. Brackmann et al. (2005) também em pós-colheita mas de frutos de maçã Fuji constataram que o fosfito de potássio teve controle de *Penicillium* spp., semelhante ao fungicida Iprodione.

Também citado na literatura como indutor de resistência em plantas, o ácido salicílico (AS) é um composto fenólico envolvido na regulação de muitos processos no crescimento e desenvolvimento de plantas, incluindo o movimento de estômatos, a germinação de sementes, absorção de íons, além de interferir com a síntese e ação de etileno em plantas (Raskin, 1992). Neste último caso ele inibe a atividade da enzima ACC oxidase, que converte o ACC em etileno. Quando aplicado, o ácido salicílico reduz a produção autocatalítica de etileno e parece diminuir a produção de etileno causada por estresses (Abeles et al., 1997). Ele atua endogenamente como uma molécula sinalizadora e tem sido demonstrado que regula diversos estresses bióticos e abióticos nas plantas (Malamy & Klessig, 1992; Dat et al., 1998). Uma função essencial do Ácido salicílico é a ativação de reações de defesa das plantas e a prevenção contra fitopatógenos (Malamy & Klessig, 1992).

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito do fosfito de potássio, zinco, manganês, fosfito de potássio + ácido salicílico, ácido salicílico, acibenzolar-S-

metil e do fungicida amistar no controle da antracnose do feijoeiro cv. BRS
Majestoso em condição de campo.

2 Material e Métodos

2.1 Obtenção de plantas de feijoeiro

O ensaio foi instalado e conduzido em campo experimental da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, no período de abril a junho de 2009. Plantas de feijoeiro, da cultivar BRS Majestoso, foram cultivadas em campo. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso (DBC), com três repetições. A parcela experimental foi constituída de cinco linhas de três metros cada, espaçadas de 0,5m, sendo as duas linhas externas a bordadura do experimento.

2.2 Inoculação

A área experimental não sofreu inoculação, tendo esta ocorrido naturalmente, pois na safra anterior havia sido plantado feijão e se constatado a presença do patógeno, constituindo-se assim de fonte inicial de inóculo para o experimento realizado.

Com o decorrer do experimento observou-se que as plantas haviam sido infectadas por *Pseudocercospora griseola* (Sacc.). Crous & Braun, (*Pseudocercospora* = *Phaeosariopsis*), o agente causal da mancha-angular do feijoeiro, assim, também se realizaram as avaliações para verificar se haveria alguma influência dos produtos no controle do patógeno acima citado, utilizando-se a escala de notas de Azevedo (1997).

2.3 Tratamentos

Foram oito tratamentos sendo eles: fosfito de potássio, fosfito de manganês, fosfito de zinco, ácido salicílico, acibenzolar-S-metil, fungicida padrão e testemunha sem aplicação, os quais foram aplicados nos estádios de desenvolvimento V4 – terceiro trifólio, R5 – pré-floração e R7 – formação das vagens com auxílio de uma bomba costal com capacidade para 20L.

TABELA 1 Tratamentos, nome comercial, composição química, dosagem e fabricante dos produtos avaliados na proteção do feijoeiro carioca cv. BRS Majestoso contra *C. lindemuthianum* em campo

Tratamentos ¹	Nome comercial	Composição	Dose	Empresa
test.	-----	-----	-----	-----
fosf. K1	Reforce [®]	340 g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ e 240 g L ⁻¹ de K ₂ O	5ml L ⁻¹	Agrichem do Brasil Ltda
fosf. Zn	Reforce [®] Zn	340 g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ e 100 g L ⁻¹ de Zn	5ml L ⁻¹	Agrichem do Brasil Ltda
fosf. Mn	Reforce [®] Mn	510 g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ e 97 g L ⁻¹ de Mn	5ml L ⁻¹	Agrichem do Brasil Ltda
fosf. K1 + AS	Reforce [®] +AS	34 g L ⁻¹ de P ₂ O ₅ , 24 g L ⁻¹ de K ₂ O e 5% de ácido salicílico	5ml L ⁻¹	Agrichem do Brasil Ltda.
AS	ácido salicílico	ácido salicílico P.A.	0,25g L ⁻¹	Merck
ASM	Bion	50% de acibenzolar-S- metil	0,0625g L ⁻¹	Syngenta Proteção de Cultivos
fung.	Amistar	50% de azoxistrobina	0,3g L ⁻¹	Syngenta Proteção de Cultivos

¹ test: testemunha; fosf. K1: Fosfito de potássio; fosf. Zn: fosfito de zinco; fosf. Mn: fosfito de manganês; fosf. K1 + AS: fosfito de potássio 1 + ácido salicílico; AS: ácido salicílico; ASM: acibenzolar-S-metil; fung.: fungicida.

2.4 Avaliação da doença

Para se realizar a avaliação da severidade da antracnose, foram realizadas avaliações a cada sete dias, com auxílio de escala de notas proposta por Godoy et al. (1997). A avaliação foi realizada em nove plantas amostradas aleatoriamente nas três linhas centrais da parcela útil.

Após as avaliações, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para cada tratamento, seguindo a seguinte fórmula Shaner & Finney (1977):

$$\text{AACPD} = \sum_{i=1}^{n-1} ((Y_i + Y_{i+1}) / 2) * (t_{i+1} - t_i)$$

Em que:

AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença;

Y_i = proporção da doença na i-ésima avaliação;

t_i = tempo em dias da i-ésima avaliação

n = número de observações.

A análise da variância foi realizada no programa Sisvar[®] - versão 5.1 (Build 72) (Ferreira, 2000). Quando a variável foi significativa no teste F, as médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3 Resultados e Discussão

Todos os produtos usados neste trabalho proporcionaram a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) estatisticamente menor quando comparados à testemunha, porém não tendo se diferenciado uns dos outros, com 90, 90, 89, 88, 87, 80 e 74% de redução para fosfito de potássio (fosf. K1), acibenzolar-S-metil (ASM), fosfito de zinco (fosf. Zn), fungicida (fung.), fosfito de manganês (fosf. Mn), ácido salicílico (AS) e fosfito de potássio 1 + ácido salicílico (fosf. K1 + AS) respectivamente (Figura 1).

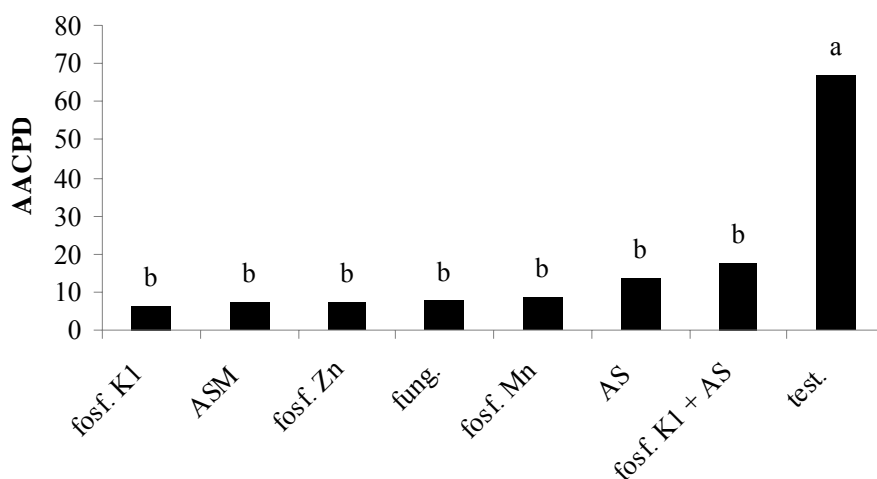


FIGURA 1 Efeito de fosfitos na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da antracnose do feijoeiro em cultivar BRS Majestoso. Tratamentos: fosf. K1: Fosfito de potássio 1; ASM: acibenzolar-S-metil; fosf. Zn: fosfito de zinco; fung.: fungicida; fosf. Mn: fosfito de manganês; AS: ácido salicílico; fosf. K1 + AS: fosfito de potássio 1 + ácido salicílico; test: testemunha. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

A severidade da doença foi menor em todos os tratamentos (fosfito de potássio - fosf. K1, fosfito de zinco - fosf. Zn, fosfito de manganês - fosf. Mn,

fosfito de potássio + ácido salicílico – fosf. K1 + AS, ASM (acibenzolar-S-metil) e fungicida quando comparados a testemunha (Figura 2).

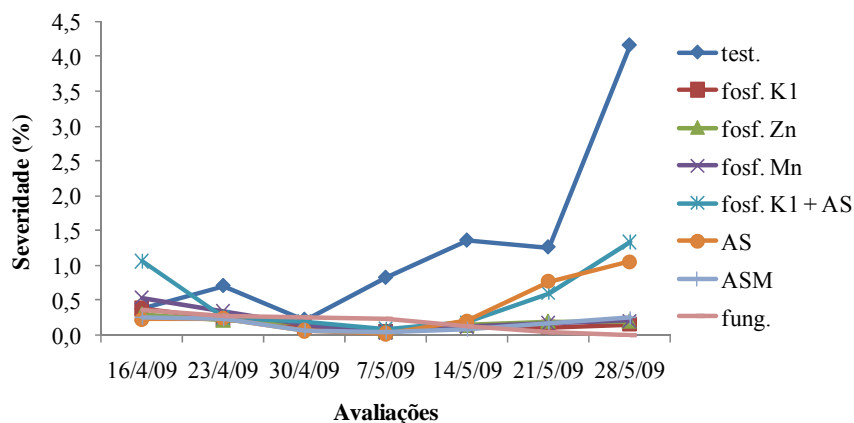


FIGURA 2 Efeito de fosfitos na curva de progresso da severidade da antracnose do feijoeiro em cultivar BRS Majestoso. Tratamentos: test: testemunha; fosf. K1: Fosfito de potássio 1; fosf. Zn: fosfito de zinco; fosf. Mn: fosfito de manganês; fosf. K1 + AS: fosfito de potássio 1 + ácido salicílico; AS: ácido salicílico; ASM: acibenzolar-S-metil; fung.: fungicida

Em se tratando da produtividade observou-se que o fungicida foi o que proporcionou maior produtividade. Os demais tratamentos apresentaram índices de produtividade intermediários entre a testemunha e o tratamento com o fungicida (Figura 3).

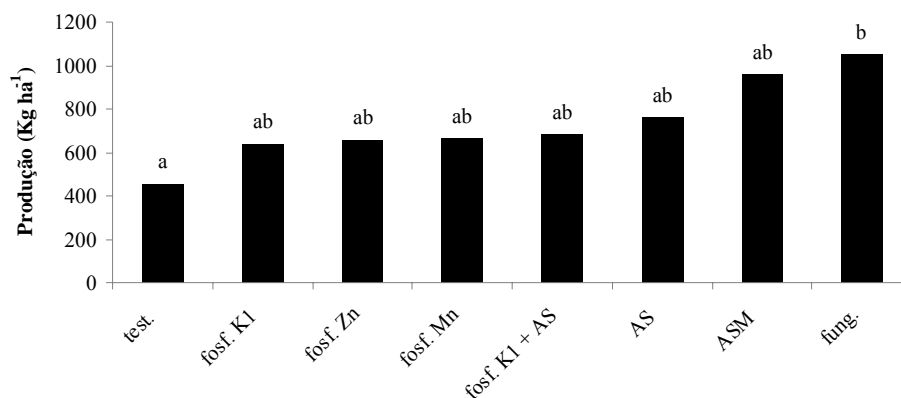


FIGURA 3 Efeito de fosfitos na produtividade do feijoeiro em cultivar BRS Majestoso. Tratamentos: test: testemunha; fosf. K1: Fosfito de potássio 1; fosf. Zn: fosfito de zinco; fosf. Mn: fosfito de manganês; fosf. K1 + AS: fosfito de potássio 1 + ácido salicílico; AS: ácido salicílico; ASM: acibenzolar-S-metil; fung.: fungicida. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

Os resultados da eficiência dos fosfitos encontrados neste trabalho corroboram com os encontrados por Ribeiro Júnior (2008) no patossistema cafeeiro vs ferrugem, que relata que os fosfitos de potássio (fosf. K1), manganês (fosf. Mn) e zinco (fosf. Zn) foram eficientes na área abaixo da curva do progresso da severidade com respectivamente, 67, 54 e 38% de controle quando comparados à testemunha, porém não tendo estatisticamente diferido entre si. Peruch & Bruna (2008) também observaram diminuição da AACPD em 94%, quando foi aplicado 0,3% de fosfito para o controle do míldio da videira cv. 'Goethe'. Dianese et al. (2008) também obtiveram resultados semelhantes trabalhando com os fosfitos de potássio (P_2O_5 40 % + K 20% - 250ml/hL) e de magnésio (P_2O_5 40 % + Mg 6% - 150 mL/hL) onde eles foram os que apresentaram os melhores resultados da média final da severidade da varíola do mamoeiro em comparação à testemunha. Nascimento et al. (2008) observaram que no tratamento onde foi aplicado o fosfito de potássio, (nome comercial

Nutriphite - 28% P₂O₅ + 26% K₂O: 200 mL) reduziu significativamente a severidade da mancha bacteriana do tomateiro em relação à testemunha, observaram também que os fosfitos foram eficientes na redução da incidência do talo-oco causado por *Erwinia* spp. Nojosa et al. (2009) trabalhando com fosfitos em Phoma do cafeeiro observaram que o fosfito de potássio nas doses de 2,5 e 5,0 mL/L reduziram a severidade da doença em 60 e 63%, respectivamente. Já Moreira & May-de-Mio (2009) constaram que quando aplicaram o fosfito de K em pré-colheita, em frutos de pêssego, os mesmos não apresentaram sintomas de podridão parda, tendo proporcionado uma redução de aproximadamente 50% da incidência e 26,5% da podridão nos frutos quando comparados a testemunha. Já Blum et al. (2007) em seus trabalhos também avaliando o fosfito K verificaram que ele reduziu a quantidade do mofo-azul, de forma similar ao observado com o fungicida. Quando aplicado em pós-colheita de frutos de maçãs 'Fuji', doses entre 1,0 e 1,5 mL/L reduziram a incidência e o diâmetro das lesões ocasionadas por *P. expansum*.

Não se tem relatos do uso da mistura de fosfito de potássio e ácido salicílico (fosf. K1 + AS) controle de doenças de plantas, sendo este o primeiro trabalho a constatar e relatar a eficiência do mesmo no controle da antracnose do feijoeiro.

A eficiência do ASM no controle de doenças de plantas pela indução de resistência via ativação de genes latentes e/ou produção de fitoalexinas já esta bastante consolidada e este trabalho apenas vem contribuir no patossistema feijoeiro vs *Colletotrichum lindemuthianum*. Sales Júnior et al. (2007) também obtiveram resultados semelhantes quando trabalharam no patossistema melão vs mancha aquosa o ASM quando aplicado em duas doses 25 e 50 g/ha apresentaram os maiores valores de controle. Já Dantas et al. (2004) em seus trabalhos com mamão vs antracnose em pós-colheita observaram que a aplicação do ASM foi eficiente na redução da incidência e da AACPD em relação à

testemunha, verificaram ainda que os melhores resultados foram observados quando os produtos eram aplicados em pré e pós-colheita. Entretanto, Silva et al. (2008) concluíram que quando o ASM foi aplicado em mistura com outros produtos ele não foi eficiente no controle da vassoura-de-bruxa do cacauzeiro. Ao passo que Toyota (2008) obteve como resultados que o ASM (5115,3) e (1908,8) quando aplicado isoladamente não proporcionou controle da ferrugem do cafeeiro, quando comparado a testemunha (5419,8) e (1971,5), tanto na incidência quanto na severidade respectivamente, porém quando em mistura com EFID (extrato de folhas de café infectadas com ferrugem) proporcionou uma redução de 52% da AACPS. Soares et al. (2004) obtiveram resultados semelhantes ao trabalharem com o patossistema feijoeiro vs *murcha-de-curtobacterium*, evidenciando que o ASM foi ineficiente, tanto para induzir resistência na cultivar suscetível (IAC Carioca) como para incrementar os níveis de resistência nas cultivares IAC Carioca Akytã e IAC Carioca Pyatã.

Neste trabalho observaram-se altas produtividade dos tratamentos em relação à testemunha, os mesmos resultados foram observados por Vitti et al. (2005) com incrementos em soqueira de cana-de-açúcar, em 8,8 e 18,5 t/ha com a aplicação de 5 e 7,5 L/ha de fosfito de potássio, respectivamente. Entretanto, Nascimento et al. (2008) não obtiveram os mesmos resultados quando trabalharam com tomate industrial. Assim como Peruch & Bruna (2008) também não observaram diferenças na produtividade quando aplicaram fosfitos em videira cv. 'Goethe'.

Todos os produtos não mostram eficiência no controle da mancha angular do feijoeiro, a área baixo da curva do progresso da severidade da doença (AACPS) foi estatisticamente semelhante para todos os produtos em relação à testemunha (Figura 4).

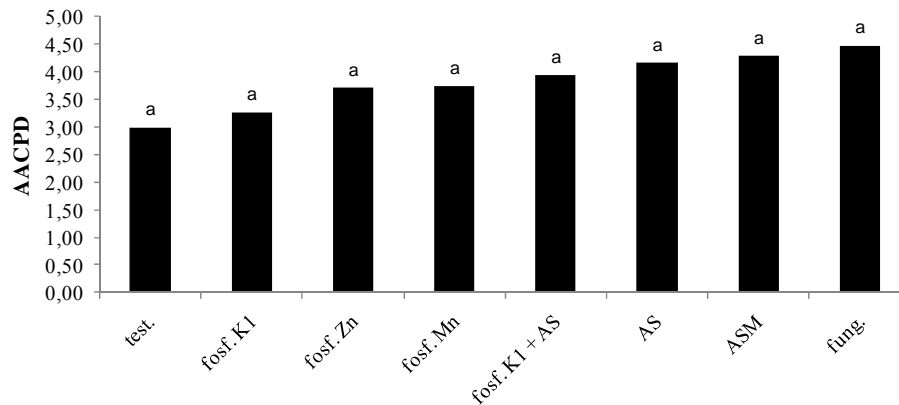


FIGURA 4 Efeito de fosfitos na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da mancha angular do feijoeiro em cultivar BRS Majestoso. Tratamentos: fosf. K1: Fosfíto de potássio 1; ASM: acibenzolar-S-metil; fosf. Zn: fosfíto de zinco; fung.: fungicida; fosf. Mn: fosfíto de manganês; AS: ácido salicílico; fosf. K1 + AS: fosfíto de potássio 1 + ácido salicílico; test: testemunha. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

Os produtos não tiveram influência na redução da severidade da mancha angular do feijoeiro, não diferindo da testemunha (Figura 5).

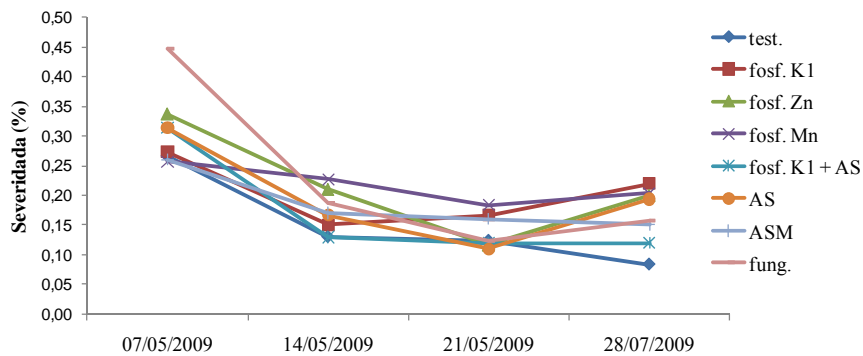


FIGURA 5 Efeito de fosfitos na curva de progresso da severidade da mancha angular do feijoeiro em cultivar BRS Majestoso. Tratamentos: test: testemunha; fosf.

K1: Fosfito de potássio 1; fosf. Zn: fosfito de zinco; fosf. Mn: fosfito de manganês; fosf. K1 + AS: fosfito de potássio 1 + ácido salicílico; AS: ácido salicílico; ASM: acibenzolar-S-metil; fung.: fungicida

Não houve efeito dos produtos no controle da mancha angular do feijoeiro tanto na área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) quanto na severidade, tendo se observado uma correlação negativa da antracnose e da mancha angular, isto é, nas plantas e/ou parcelas onde se observaram altos índices da antracnose, constataram-se baixos índices de mancha angular e vice-versa, acredita-se que este fato tenha ocorrido pela competição por sítio de alimentação.

4 Conclusões

Todos os produtos usados foram eficientes no controle da antracnose do feijoeiro, pois proporcionaram baixos valores da AACPD chegando a 90% de controle (fosf. K1).

Destacam-se os fosfitos de potássio, zinco e manganês (fosf. K1, fosf. Zn e fosf. Mn) que condicionaram menores severidades da doença semelhantes ao fungicida.

A produtividade do feijoeiro foi incrementada com a aplicação dos fosfitos de potássio, zinco, manganês e potássio mais ácido salicílico e do fungicida amistar.

5 Referências Bibliográficas

- ABELES, F.B.; MORGAN, P.W.; SALTVEIT, M.E. **Ethylene in plant biology**. 2.ed. San Diego: Academic, 1997. 414p.
- AZEVEDO, L.A.S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: Novartis, 1997. v.1, 114p.
- BRACKMANN, A.; SESTARI, I.; GIEHL, R.F.H.; STEFFEMS, C.A.; FAULIN, G. di C.; PINTO, J.A.V. Controle de podridão pós-colheita de *Penicillium* spp., em maçã 'Fuji' com fosfitos e fungicidas. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.11, n.3, p.251-254, jul./set. 2005.
- BLUM, L.E.B.; AMARANTE, C.V.A. do; DEZANET, A.; LIMA, E.B. de L.; HACK NETO, P.; ÁVILA, R.D.; SIEGA, V. Fosfitos aplicados em pós-colheita reduzem o mofo-azul em maçãs 'fuji' e 'gala'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.29, n.2, p.265-268, ago. 2007.
- DANTAS, S.A.F.; OLIVEIRA, S.M.A.; BEZERRA NETO, E.; SILVA, R.R.L.X. da. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.30, n.3, p.314-319, maio/jun. 2004.
- DAT, J.F.; CHRISTINE, H.; FOYER, C.H.; SCOTT, I.M. Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in mustard seedlings. **Plant Physiology**, Washington, v.118, n.4, p.1455-1461, Dec. 1998.
- DERCKX, W.; CREASY, L.L. Influence of fosetyl: al on phytoalexin accumulation in the *Plasmopara viticola*-grapevine interaction. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Orlando, v.34, n.3, p.203-213, Apr. 1989.
- DIANESE, A. de C.; BLUM, L.E.B.; DUTRA, J.B.; LOPES, L.F.; SENA, M.C.; FREITAS, L.F. de. Avaliação do efeito de fosfitos na redução da variola (*Asperisporium caricae*) do mamoeiro (*Carica papaya*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.3, p.834-837, set. 2008.
- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 5.1. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

GODOY, C.V.; CARNEIRO, S.M.T.P.G.; IAMAUTI, M.T.; PRIA, M.D.; AMORIM, L.; BERGER, R.D.; BERGAMIN FILHO, A. Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Berne, v.104, n.4, p.336-345, Dec. 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário 2006**. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 20 set. 2008.

MALAMY, J.; KLESSIG, D.F. Salicylic acid and plant disease resistance. **Plant Journal**, Oxford, v.2, n.5, p.643-654, Oct. 1992.

MOREIRA, L.M.; MAY-DE-MIO, L.L. Controle da podridão parda do pessegueiro com fungicidas e fosfitos avaliados em pré e pós-colheita. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.2, p.405-411, mar./abr. 2009.

MOREIRA, L.M.; MAY-DE-MIO, L.L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; LIMA, M.L.R.Z.C.; POSSAMAI, J.C. Controle em pós-colheita de *Monilinia fructicola* em pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n.4, p.395-398, jul./ago. 2002.

NASCIMENTO, A. dos R.; FERNANDES, P.M.; ROCHA, M.R. da; SILVA, E.A. da. Fontes de fosfito e acibenzolar-S-metil no controle de doenças e produtividade do tomateiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.24, n.1, p.53-59, jan./mar. 2008.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V. de; BARGUIL, B.M.; MORAES, S.R.G.; VILAS-BOAS, C.H. Efeito de indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.35, n.1, p.60-62, jan./fev. 2009.

PELOSO, M.J. Antracnose do feijoeiro no Estado de Minas Gerais-Brasil. In: PASTOR-CORRALES, M.A. (Ed.). **La antracnosis del frijol común, *Phaseolus vulgaris*, em América Latina**. Cali: CIAT, 1992. p.212-239. (Doc. de trabajo, 113).

PERUCH, L.A.M.; BRUNA, E.D. Relação entre doses de calda bordalesa e de fosfito potássico na intensidade do míldio e na produtividade da videira cv. 'Goethe'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.9, p.2413-2418, dez. 2008.

RASKIN, I. Role of salicylic acid in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.43, p.439-463, 1992.

RESENDE, M.L.V.; COSTA, J.C.B.; CAVALCANTI, F.R.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; CAMILO, F.R. Seleção de extratos vegetais para indução de resistência e ativação de respostas de defesa em cacaueteiro contra a vassoura-de-bruxa. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n.3, p.213-221, maio/jun. 2007.

REUVENI, M. Post-infection applications of K_3PO_3 , phosphorous acid and dimethomorph inhibit development of downy mildew caused by *Plasmopara viticola* on grapes. **Journal of Small Fruit & Viticulture**, Binghamton, v.5, n.2, p.27-38, Apr. 1997.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeteiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. 105p. Tese (Doutorado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V. de; PEREIRA, R.B.; CAVALCANTI, F.R.; AMARAL, D.R.; PÁDUA, M.A. de. Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* Kleb., em mudas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.4, p.629-636, jul./ago. 2006.

SALES JUNIOR, R.; PONTES FILHO, F.S.T.; NUNES, G.H. de S.; TORRES, G.R. de C. Eficiência de Acibenzolar-S-Methyl e Oxiclóreto de cobre no controle de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, agente causal da “mancha-aquosa” no Meloeiro. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v.7, n.1, p.66-70, mar. 2007.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A.; FARIA, J.C. de. **Sistemas de produção**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em: 2 set. 2008.

SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopatology**, Saint Paul, v.70, n.8, p.1183-1186, Aug. 1977.

SILVA, I.L. do S.S. da; RESENDE, M.L.V. de; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; COSTA, J. de C. do B.; CAMILO, F.R.; BAPTISTA, J.C.; SALGADO, S.M. de L. Efeito de nutrientes combinados com indutores de resistência na proteção contra a vassoura-de-bruxa no cacaueteiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.1, p.61-67, jan./fev. 2008.

SOARES, R.M.; MARINGONI, A.C.; LIMA, G.P.P. Ineficiência de Acibenzolar-S-Methyl na indução de resistência de feijoeiro comum à Murcha-de-Curtobacterium. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.4, p.139-144, jul./ago. 2004.

TOYOTA, M. **Extratos vegetais e produtos comerciais no manejo da ferrugem e nos mecanismos de defesa do cafeeiro à cercosporiose**. 2008. 66p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

UKNES, S.; MORRIS, S.; VERNOOIJ, B.; RYALS, J. The role of benzoic acid derivatives in systemic acquired resistance. In: ROMERO, J.T.; SAUNDERS, J.A.; BARBOSA, P. (Ed.). **Recent advances in phytochemistry**: phytochemical diversity and redundancy in ecological interactions. New York: Plenum, 1996. p.253-263.

VITTI, G.C.; LUZ, P.H.C.; OTTO, R.; QUEIROS, F.E.C.; PACKER, L.A. Utilização de fosfito em cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE CANA-DE-AÇÚCAR, 1., 2005, Piracicaba. **Resumos...** Campinas: Intercuf, 2005. p.17.

**CAPÍTULO 4: Caracterização de mecanismos bioquímicos envolvidos na
resposta de proteção induzida do feijoeiro contra *Colletotrichum
lindemuthianum* em plantas tratadas com fosfitos**

Resumo¹

No Brasil, o feijoeiro comum representa uma importante cultura agrícola, por ser plantado em áreas produtivas, pelo valor da produção e por ser um dos principais componentes da alimentação da população. Neste trabalho objetivou-se avaliar o efeito da aplicação do fosfito de potássio, de manganês e do acibenzolar-S-metil na atividade das peroxidases, polifenoloxidasas, fenóis totais e lignina. Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados com três repetições. Testaram-se dois fosfitos de potássio (5mL/L), fosfito de manganês (5mL/L) e ASM (0,0625g/L). Os tratamentos proporcionaram o aumento da peroxidase, polifenoloxidase, nos teores de fenóis solúveis totais em folhas de feijoeiro. Os produtos avaliados não proporcionaram alteração nos teores de lignina solúvel total ao longo das avaliações.

Palavras chave: Feijoeiro, *Colletotrichum lindemuthianum*, Fosfitos, Peroxidase, Polifenoloxidase, Fenóis solúveis e Lignina.

Abstract¹

In Brazil, the common bean plant represents an important crops for being planted in productive areas, for the value of the production and for being one of the principal components of the feeding of the population. In this work it was aimed to evaluate the effect of the application of the potassium, manganese phosphites and of the acibenzolar-S-methyl in the activity of the peroxidase, polifenoloxidase, total phenols and lignin. A randomized blocks with three repetitions was used. Two phosphites were tested potassium (5mL/L), and manganese (5mL/L) and ASM (0,0625g/L). The treatments provided the increase of the peroxidase, polifenoloxidase and in the tenors of total soluble phenols in bean plant leaves. The appraised products didn't provide alteration in the tenors of total soluble lignin along the evaluations.

Keywords: Bean plant, *Colletotrichum lindemuthianum*, Phosphites, Peroxidase, Polifenoloxidase, Soluble phenols and Lignin.

1 Introdução

No Brasil, o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) constitui uma importante cultura agrícola, por ser plantado em áreas produtivas, pelo valor da produção e por ser um dos principais componentes da alimentação da população. Apesar da agricultura atualmente aumentar a potencialidade de produção, pois a prática da agricultura econômica necessita, para o controle de pragas e doenças de plantas, do uso excessivo de pesticidas (Sartorato et al., 2008).

O uso indiscriminado de fungicidas tem causado danos ao meio ambiente e favorecido a seleção de raças insensíveis de patógenos a estas substâncias químicas (Ghini & Kimati, 2000), além da contaminação de alimentos, intoxicação de homens e animais e surgimento de algumas doenças, antes consideradas secundárias (Zadoks, 1992). Para a cultura, a antracnose causada por *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) é a doença de maior importância, pois afeta todas as cultivares suscetíveis em todo mundo onde as temperaturas são moderadas a frias e com alta umidade relativa (Sartorato & Rava, 1994). Segundo Chaves (1980) quando são semeadas sementes infectadas e as condições ambientais são favoráveis ao patógeno as perdas ocasionadas por ele podem chegar a 100%. Estas perdas são maiores quanto mais cedo ou precoce for o aparecimento da doença na área de cultivo (Sartorato & Rava, 1994).

Na atualidade, tem se enfatizado a busca por alimentos mais saudáveis, isentos de resíduos tóxicos, e isso estimula a pesquisa por novas medidas de proteção das plantas contra fitopatógenos. Um dos enfoques da agricultura agroecológica é o controle alternativo de doenças de plantas, no qual se inclui a indução de resistência. A indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa não presentes na planta ou existentes em baixa quantidade (Hammerschmidt & Dann, 1997). Esta ativação pode ser obtida pelo

tratamento com agentes bióticos (como microrganismos viáveis ou inativados) (Stangarlin & Pascholati, 1994) ou abióticos, como ácido aminobutírico (Cohen, 1996), ácido salicílico (Raskin, 1992), ácido jasmônico e acibenzolar-S-metil (Resende et al., 2007). Essas moléculas capazes de ativar/induzir qualquer resposta de defesa nas plantas são chamadas de eliciadores (Smith, 1996), podendo, neste caso, atuarem como indutores de resistência. A forma de ação desses indutores é muito ampla e muitas vezes desconhecida, mas sabe-se que atuam na síntese de ácido salicílico, ativação de enzimas relacionadas à patogênese (PRP's) e na indução à produção de metabólitos secundários como as fitoalexinas (Bonaldo et al., 2005).

As fitoalexinas constituem um grupo de metabólitos secundários, antimicrobianos, de baixo peso molecular, produzidos pelas plantas em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos, sendo capazes de impedir ou reduzir a atividade de agentes patogênicos (Purkayastha, 1995).

Dentre os produtos usados na indução de resistência de plantas a patógenos se encontram os sais de fosfito que são produtos empregues no controle de Oomycetes tais como *Pytium* spp. e *Phytophthora* spp. assim como os fungos causadores de podridões do colo, raiz, tronco e frutos (McDonald et al., 2001).

Quando estes produtos são aplicados sobre plantas doentes incitam-nas a produção e aumento de proteínas relacionadas à patogênese (PRP's) tais como quitinases, peroxidases, polifenoloxidasas e β -1,3-glucanases, bem como lignina. Ribeiro Júnior et al. (2006) verificaram que em caules de plantas de cacauete tratadas com ASM e inoculadas com *Verticillium dahliae*, 13 dias após a pulverização houveram aumentos de peroxidases. Já quando aplicado o fosfito de potássio na dose de 1,25mL/L aos 13 dias não verificaram um aumento na atividade das enzimas peroxidases e polifenoloxidasas. Resende et al. (2007) também verificaram o aumento das atividades de peroxidase de

guiacol quando aplicaram ASM em mudas de cacaueteiro contra vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) aos 4 após a aplicação quando comparado ao tratamento controle que havia sido pulverizado somente com água. Ainda no mesmo trabalho os autores constataram o aumento na atividade de quitinase aos oito dias após a aplicação. Bem como o incremento de β -1,3-glucanase até os 13 dias após a aplicação.

Dada a possibilidade de uso de diferentes indutores de resistência, objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito da aplicação do fosfito de potássio, de manganês e do acibenzolar-S-metil na atividade da peroxidase, polifenoloxidase, fenóis totais e lignina.

2 Material e Métodos

Para a determinação da atividade de peroxidase, polifenoloxidase, dos teores de lignina solúvel em ácido e fenóis solúveis totais, plantas de feijoeiro cv. BRS Majestoso, suscetível à antracnose, foram cultivadas em vasos de 3 litros contendo areia, terra e esterco bovino na proporção de 2:1:1 e adubados com 5g de NPK (4:14:8). Foram plantadas cinco sementes de feijoeiro por vaso e, 15 dias após a emergência, foi realizado o desbaste mantendo-se apenas três plântulas mais vigorosas e homogêneas por vaso.

2.1 Tratamentos e tempos de coleta

Foram utilizados os tratamentos que proporcionaram maior controle da antracnose no experimento de campo e de casa de vegetação. Os fosfitos usados no experimento foram os que mais se destacaram nos experimentos anteriores, fosfitos de potássio e de manganês (fosf. K1 e Mn, respectivamente) na dose de 5ml/L e acibenzolar-S-metil (ASM) na dose de 0,0625g/L, os produtos foram aplicados aos 25 dias após o plantio (estádio vegetativo R4).

Para a determinação da atividade das proteínas totais, peroxidase e polifenoloxidase foram coletados tecidos foliares de feijoeiro nos tempos de 0; 0,5; 1; 3; 6; 7,5; 8; 10; 13; e 17 dias após pulverização e para a determinação dos teores de fenóis solúveis totais e lignina foram coletados tecidos foliares nos tempos de 10; 13 e 17 dias após pulverização.

2.2 Inoculação

Para obtenção do inóculo, uma colônia pura em meio M3 de *C. lindemuthianum*, raça 65 LV 81, cedida pelo Laboratório de Resistência de Plantas do Departamento de Biologia da UFLA, foi multiplicada em vagens jovens de feijoeiro, em tubos de ensaio, contendo meio ágar-água e mantidos em câmara de crescimento do tipo BOD a $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 10 dias. Inicialmente, os tubos de ensaio foram autoclavados por dois dias durante 1 hora a 120°C e no terceiro dia, foi realizada a inoculação nas vagens por meio de um disco de micélio. Após a plena esporulação, para obtenção da suspensão de conídios, adicionou-se água destilada aos tubos de ensaio e os mesmos foram agitados e a suspensão obtida foi filtrada em gaze dupla. A quantificação dos conídios foi realizada com ajuda da câmara de contagem Neubauer e ajustada para concentração de 1×10^6 conídios/mL.

A inoculação foi realizada por meio de pulverização da suspensão de inóculo até o ponto de escorrimento com auxílio de pulverizadores manuais com capacidade de 500 mL. Após a inoculação, os vasos com as plantas foram cobertos por sacos plásticos transparentes, por um período de 14 h, para proporcionar uma câmara úmida e favorecer a penetração e colonização pelo fungo.

A inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* foi realizada 7 dias após a aplicação dos produtos.

2.3 Preparo das amostras para determinação das atividades enzimáticas

Cada amostra coletada foi acondicionada em papel alumínio devidamente identificado, congelada em nitrogênio líquido e armazenada a -80

°C. Para o preparo dos extratos, cada amostra congelada foi pesada e macerada individualmente com o auxílio de um pistilo em almofariz de porcelana sobre o gelo, homogeneizada em tampão acetato de sódio 50mM, pH 5,2, na proporção de 1g de matéria fresca da amostra para 8 mL de tampão. O extrato homogeneizado foi centrifugado a 12.000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante, coletado em microtubos plásticos, armazenados a -80 °C para análise posterior.

2.4 Determinação de proteínas totais

Para a determinação da atividade específica, a concentração de proteínas totais foi determinada pelo método de Bradford (1976), ajustando-se uma curva padrão, determinada previamente com o uso de soluções com concentrações conhecidas de albumina sérica bovina (0-100µg/mL), correlacionando-se a concentração de proteínas com leituras de absorbância, em espectrofotômetro a 595nm.

2.5 Determinação da atividade de Peroxidase

Para determinação da atividade de peroxidase foi utilizada a metodologia descrita por Urbanek et al. (1991). Como doador de elétrons foi utilizado o guaiacol e como receptor, o peróxido de hidrogênio. A reação, catalisada pela peroxidase, produz um composto colorido 3,3'-dimetoxi-4,4'-bifenolquinona. Uma alíquota de 30 µL do extrato bruto foi adicionada a 170 µL de uma solução contendo guaiacol 0,02M, peróxido de hidrogênio 0,06M e tampão acetato de sódio 50mM, pH 5,2. A mistura foi incubada a 30 °C, por 10 minutos, e em seguida sua absorbância medida a 480nm. A variação de 1,0 unidade de absorbância por minuto será assumida como sendo 1,0 unidade de atividade peroxidásica por miligrama de proteína por minuto (Δ_{480nm} (mg P min⁻¹)). A atividade enzimática foi realizada em triplicata.

2.6 Determinação da atividade de Polifenoloxidase

A atividade de polifenoloxidase foi determinada pela adição de 50 μL do extrato enzimático em 150 μL uma solução contendo tampão fosfato de potássio pH 6,5 e catecol 20 mM (Gauillard et al., 1993). Após incubação (30 °C, por 10 minutos) foi medido o acréscimo da absorbância a 410 nm ($(\Delta_{410\text{nm}} (\text{mg P min})^{-1})$). As análises foram realizadas em triplicata.

2.7 Determinação do conteúdo de lignina e fenóis solúveis totais

Os tecidos vegetais foliares foram triturados em nitrogênio líquido, com almofariz e pistilo até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, as amostras foram liofilizadas por 12 horas. Uma alíquota de 30mg do material liofilizado foi transferida para micro tubo de 2mL, homogeneizada com 1,5mL de metanol a 80% e mantida sob agitação, por 15 horas, em agitador rotativo, protegido da luz à temperatura ambiente. A suspensão foi centrifugada, a 12.000g, por 5 minutos. O sobrenadante (extrato metanólico) foi transferido para novo microtubo, com o qual se realizou a determinação de fenóis solúveis totais, enquanto o resíduo sólido foi utilizado para determinação de lignina solúvel como descrito a seguir.

Para a determinação da lignina, foi adicionado ao resíduo sólido 1,5mL de água, homogeneizado e centrifugado, a 12.000rpm, por 5 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi seco, a 65°C, por 15 horas. Posteriormente, acrescentou-se 1,5mL de solução de ácido tioglicólico:HCl 2M (1:10). Em seguida, agitaram-se suavemente os microtubos, para hidratar o resíduo e estes foram colocados em banho-maria em fervura por 4 horas.

Posteriormente, os microtubos foram centrifugados, a 12.000rpm, por 10 minutos, a 4°C, o sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado com 1,5mL

de água ultrapura e novamente centrifugado, a 12.000rpm, por 10 minutos, a 4°C.

A seguir, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspensão em 1,5 mL de NaOH 0,5M e mantido em agitador rotativo, por 15 horas, à temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 12.000rpm, por 10 minutos, a 4°C e o sobrenadante transferido para novo microtubo, ao qual foram adicionados 200 µL de HCl concentrado. A suspensão obtida foi mantida em câmara fria (4°C), por 4 horas, para permitir a precipitação da lignina ligada ao ácido tioglicólico.

A seguir, a mistura foi centrifugada a 12.000rpm, por 10 minutos, a 4°C, o sobrenadante descartado e o precipitado ressuspensão em 2mL de NaOH 0,5M.

A absorbância desta solução foi determinada em espectrofotômetro, a 280nm e os valores calculados com base na curva de lignina e expressos em µg de lignina solúvel por miligrama de massa seca (Doster & Bostock, 1988).

Para a determinação dos teores de fenóis solúveis totais, alíquotas de 150µL do extrato metanólico foram misturadas a 150µL do reagente de Folin-Ciocalteu 0,25N, por 5 minutos, homogeneizadas com 150µL de Na₂CO₃ 1M, por 10 minutos e diluídas com 1 mL de água ultrapura, à temperatura ambiente, por uma hora.

Os valores de absorbância desta reação foram determinados, a 725nm, em espectrofotômetro e calculados com base em curva de catecol. Os compostos fenólicos totais foram expressos em equivalente µg de catecol por miligrama de massa seca (Spanos & Wrolstad, 1990).

3 Resultados e Discussão

3.1 Determinação da atividade de Peroxidase

De modo geral, observou-se que a atividade da peroxidase variou em função do tratamento (fosfito de potássio e de manganês, ASM) ao longo do ciclo da cultura, entretanto, os maiores teores observaram-se a partir do 6º dia após a pulverização (Figura 1 A-C).

Nas plantas tratadas com fosfito de potássio observou-se uma leve oscilação do aumento dos teores da peroxidase, bem como na testemunha inoculada a partir do 7,5º dias após a pulverização, porém sempre superiores em relação à testemunha não inoculada (Figura 1B). Observou-se que as plantas tratadas com fosfito de manganês foram as que proporcionaram maiores diferenças nos teores da peroxidase ao longo dos dias. Ocorreu um claro aumento nas plantas tratadas com fosfito de manganês inoculadas e não inoculadas a partir do 6º dia após a pulverização, tendo atingido o pico aos 8 dias, até o 17º dias (Figura 1C). Resultados semelhantes em trabalhos com fosfitos no patossistema cacau *vs* *Verticillium dahliae*, foram observados por Ribeiro Júnior et al. (2006), os autores constataram um pequeno incremento na atividade da peroxidase aos 13 dias após a pulverização do fosfito de potássio (1,25 mL/L). Já Nojosa (2003) observou em plantas tratadas com fosfito de potássio e inoculadas com *Hemileia vastatrix*, apresentaram atividade de peroxidases foi superior a testemunha absoluta e inoculada. Os fosfitos de potássio e de manganês proporcionaram aumentos da peroxidase em plantas tratadas aos 7 dias após a pulverização em cafeeiro contra *Cercospora coffeicola* (Ribeiro Júnior, 2008). Toyota (2008) também observou que plantas de cafeeiro tratadas com fosfito de cobre contra *Cercospora coffeicola* foram as que apresentaram altas atividades da peroxidase aos 11 dias após a pulverização.

Diversas funções são atribuídas as peroxidases na defesa celular, participam na lignificação, suberização e metabolismo de parede celular e são classificadas como proteínas relacionadas a patogênese (proteínas -PR) (Loon & Strien, 1999). O funcionamento básico das peroxidases consiste em reagir com compostos contendo grupos hidroxila anexado a um anel aromático (Hiraga et al., 2001).

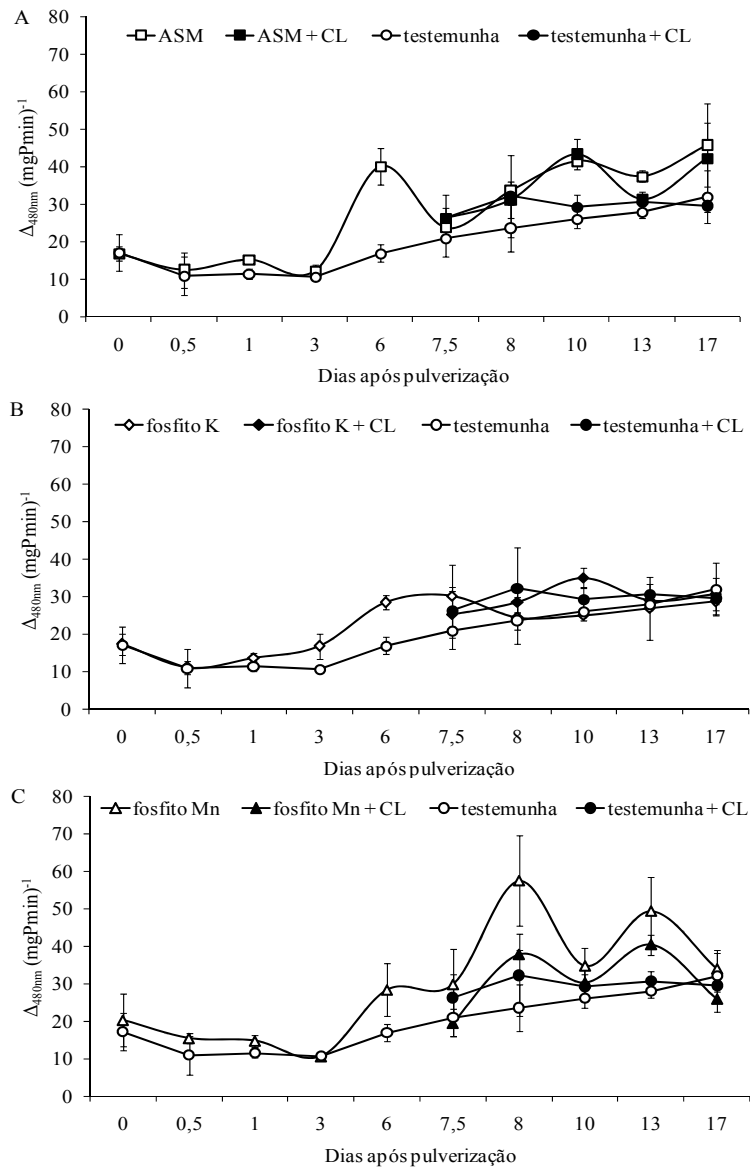


FIGURA 1 Atividade de peroxidase de guaiacol em folhas de feijoeiro, cv BRS Majestoso, após tratamentos com: ASM – acibenzolar-S-metil (A), fosfito de potássio (fosfito K) (B) e fosfito de manganês (fosfito Mn) (C), comparados com a testemunha. A inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum* (CL) ocorreu 7 dias após pulverização. Barras indicam desvio padrão da média

3.2 Determinação da atividade de Polifenoloxidase

A atividade de polifenoloxidase variou em função dos tratamentos (fosfito de potássio e de manganês e ASM) ao longo das avaliações (Figura 2A-C).

As plantas que foram tratadas com fosfito de potássio não inoculadas apresentaram o pico de atividade de polifenoloxidase aos 6 dias após a pulverização, apresentando-se assim superior a testemunha não inoculada. Entretanto, quando ocorreu a inoculação observou-se decréscimo desses teores tanto nas que foram aplicadas o fosfito quanto na testemunha (Figura 2B). Nas plantas que receberam o fosfito de manganês os teores de polifenoloxidase não variaram até o 6º dia após a pulverização, porém após os 7,5 dias após a pulverização ocorreu um aumento significativo nas plantas sem inoculação e tratadas com fosfito de manganês (Figura 2C). Resultados semelhantes foram observados por Ribeiro Júnior et al. (2006), os quais observaram em plantas de cacau tratadas com fosfito de potássio (1,25 mL/L) não induziu aumento significativo na atividade da enzima polifenoloxidase na testemunha não inoculada com *V. dahliae*, nem na testemunha inoculada com água.

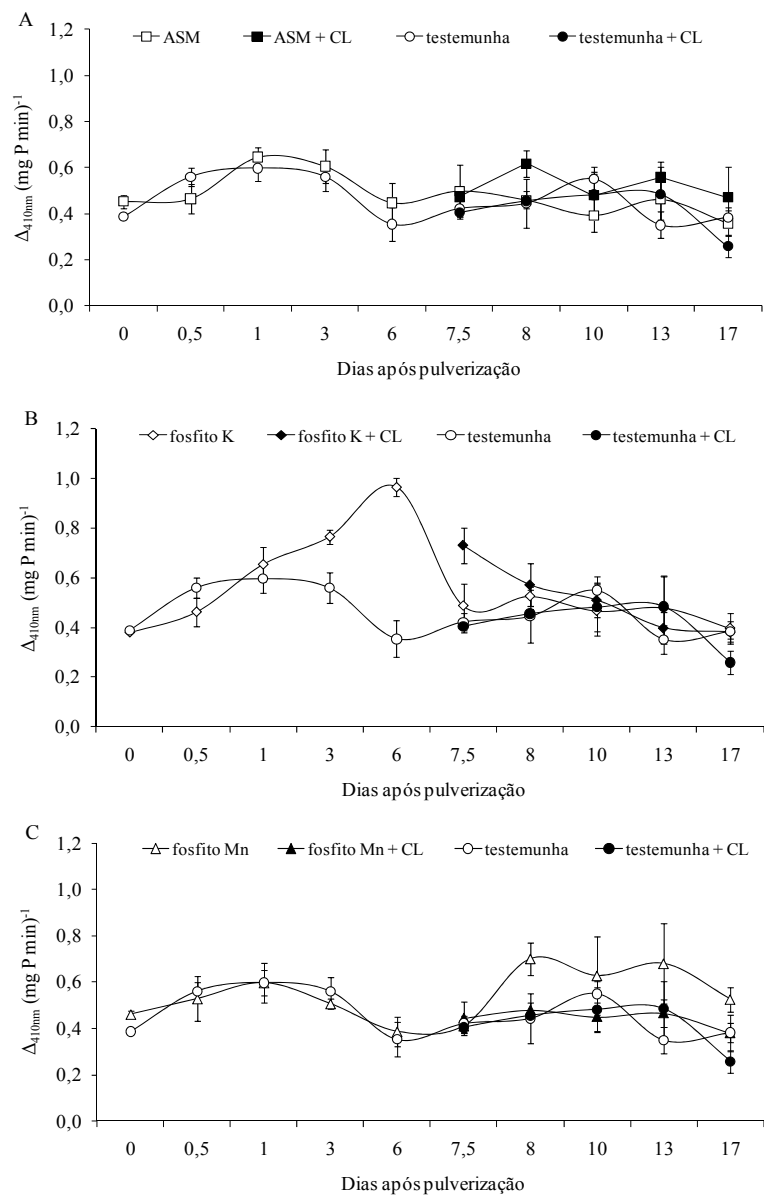


FIGURA 2 Atividade de polifenoloxidase em folhas de feijoeiro, cv BRS Majestoso, após tratamentos com: ASM – acibenzolar-S-metil (A), fosfite de potássio (fosfite K) (B) e fosfite de manganês (fosfite Mn) (C), comparados com a testemunha. A inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum* (CL) ocorreu 7 dias após pulverização. Barras indicam desvio padrão da média

3.3 Determinação do conteúdo de lignina e fenóis solúveis totais

Os teores de compostos fenólicos totais variaram apenas aos 10 dias após a pulverização, nos tratamentos em que se aplicaram os fosfitos de potássio e de manganês e ASM quando comparados a testemunha, entretanto nas outras 2 coletas não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos (Tabela 1). Resultados semelhantes foram observados por Daniel & Guest (2006) em *arabidopsis* cultivadas em meio contendo fosfito de potássio, acúmulo de compostos fenólicos no local de infecção, 6 horas após inoculação com *P. palmivora* e estes compostos ficaram concentrados ao redor das células infectadas 48 horas após a inoculação. Quanto a lignina solúvel não se observou diferença estatística os tratamentos em nenhuma das coletas (Tabela 1). Ribeiro Júnior (2008) observou resultados semelhantes quando aplicou fosfitos de potássio, de manganês e o ASM, os fosfitos não proporcionaram qualquer aumento significativo para o teor de lignina solúvel em ácido em plantas de cafeeiro.

TABELA 1 Teor de fenóis solúveis totais (μg de catecol $\text{mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$) e de lignina solúvel total ($\mu\text{g} \text{mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$) em folhas de plantas de feijoeiro cultivar BRS Majestoso, após tratamentos com: ASM – acibenzolar-S-metil, fosfito de potássio (fosfito K) e fosfito de manganês (fosfito Mn) comparados com a testemunha

Tratamentos*	Fenóis solúveis totais ($\mu\text{g} \text{mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$)		
	Dias após pulverização dos tratamentos		
	10	13	17
ASM	1,49 b	1,57 a	1,56 a
ASM + CL	1,77 a	1,72 a	1,65 a
fosfito K	1,65 a	1,63 a	1,60 a
fosfito K + CL	1,54 b	1,68 a	1,63 a

fosfito Mn	1,77 a	1,63 a	1,52 a
fosfito Mn + CL	1,87 a	1,73 a	1,56 a
Testemunha	1,32 b	1,53 a	1,54 a
testemunha + CL	1,42 b	1,43 a	1,50 a
CV%	11,50	12,29	10,10
Lignina solúvel ($\mu\text{g mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$)			
Tratamentos*	Dias após pulverização dos tratamentos		
	10	13	17
ASM	23,52 a	26,45 a	25,34 a
ASM + CL	28,38 a	26,81 a	26,89 a
fosfito K	28,27 a	23,85 a	25,77 a
fosfito K + CL	28,22 a	26,49 a	25,97 a
fosfito Mn	27,49 a	28,44 a	24,49 a
fosfito Mn + CL	27,23 a	25,86 a	25,35 a
Testemunha	26,17 a	26,90 a	23,28 a
testemunha + CL	22,80 a	23,44 a	22,49 a
CV%	11,00	13,70	9,90

*A inoculação ocorreu aos sete dias após pulverização com *Colletotrichum lindemuthianum* (CL).

Médias com mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo testes de Scott-Knott ($p \leq 0,05$)

4 Conclusões

Os fosfito de potássio e manganês proporcionaram ao aumento da atividade de peroxidase e polifenoloxidase assim como nos teores de fenóis solúveis totais em folhas de feijoeiro.

Os produtos avaliados não proporcionaram alteração nos teores de lignina solúvel total ao longo das avaliações.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONALDO, M.B.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.11-28.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v.72, n.3, p.248-254, Apr. 1976.

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

COHEN, Y. Induced resistance against fungal diseases by aminobutyric acids. In: LYR, H.; RUSSEL, P.E.; SISLER, H.D. (Ed.). **Modern fungicides and antifungal compounds**. Andover: Intercept, 1996. p.461-466.

DANIEL, R.; GUEST, D. Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.67, n.3/5, p.194-201, Sept./Dec. 2006.

DOSTER, M.A.; BOSTOCK, R.M. Quantification of lignin formation in almond bark in response to wounding and infection by *Phytophthora* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v.78, n.4, p.473-477, Apr. 1988.

GAUILLARD, F.; RICHARD-FORGET, F.; NICOLAS, J. New spectrophotometric assay for polyphenol oxidase activity. **Analytical Biochemistry**, New York, v.215, n.1, p.59-65, Jan. 1993.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos e fungicidas**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. 78p.

HAMMERSCHMIDT, D.; DANN, E.K. Induced resistance to disease. In: RECHCIGL, N.A.; RECHCIGL, J.E. (Ed.). **Environmentally safe approaches to crop disease control**. Boca Raton: CRC, 1997. p.177-199.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidases. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v.42, n.5, p.462-468, May 2001.

LOON, L.C. van; STRIEN, E.A. van. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.55, n.2, p.85-97, Aug. 1999.

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

NOJOSA, G.B. de A. **Efeito de indutores de resistência de *Coffe arabica* L. a *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. E *Phoma costarricensis* Enchadi.** 2003. 102p. Tese (Doutorado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PURKAYASTHA, R.P. Progress in phytoalexin research during the past 50 years. In: DANIEL, M.; PURKAYASTHA, R.P. (Ed.). **Handbook of phytoalexin metabolism and action.** New York: M.Dekker, 1995. p.1-39.

RASKIN, I. Role of salicylic acid in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.43, n.1, p.439-463, Jan. 1992.

RESENDE, M.L.V.; COSTA, J.C.B.; CAVALCANTI, F.R.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; CAMILO, F.R. Seleção de extratos vegetais para indução de resistência e ativação de respostas de defesa em cacaueteiro contra a vassoura-de-bruxa. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n.3, p.213-221, maio/jun. 2007.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeteiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola*.** 2008. 105p. Tese (Doutorado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V. de; PEREIRA, R.B.; CAVALCANTI, F.R.; AMARAL, D.R.; PÁDUA, M.A. de. Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* kleb., em mudas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.4, p.629-636, jul./ago. 2006.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. Antracnose. In: _____. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle.** Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p.17-39.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A.; FARIA, J.C. de. **Sistemas de produção**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em: 2 set. 2008.

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

SPANOS, G.A.; WROLSTAD, R.E. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. **Journal of Agricultural & Food Chemistry**, Washington, v.38, n.7, p.1565-1571, July 1990.

STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.20, n.1, p.16-21, jan./fev. 1994.

TOYOTA, M. **Extratos vegetais e produtos comerciais no manejo da ferrugem e nos mecanismos de defesa do cafeeiro à cercosporiose**. 2008. 66p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, H. Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologiae Plantarum**, Copenhagen, v.13, n.1, p.43-50, Jan. 1991.

ZADOKS, J.C. The costs of change in plant protection. **Journal of Plant Protection**, Kuala Lumpur, v.9, n.2, p.151-159, Dec. 1992.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estes resultados nos incitam a recomendar o uso de fosfitos no controle da antracnose do feijoeiro como mais uma alternativa de controle, porém deve-se ter em mente que estes precisam fazer parte de um programa de manejo integrado associando-se o uso de fosfitos e fungicidas.

Se tivessem sido feitas as análises de todas as coletas para se quantificar os teores de fenóis solúveis totais e lignina, talvez tivesse se observado variações dos mesmos ao longo do ciclo.

Este estudo permite que outros possam ser realizados futuramente, para análise de outras enzimas, tais como quitinase e β -1,3-glucanase.

Neste trabalho poder-se-ia testar as doses equivalentes dos fosfitos, recomenda-se a quem for trabalhar com fosfitos que o faça, atendendo e considerando a concentração de P_2O_5 de cada um dos fosfitos.

Não se observou qualquer efeito dos produtos testados no controle da mancha angular.