



FABÍOLA DE SOUSA LUNA

**BIOCONTROLE NO MANEJO DE *Colletotrichum*
lindemuthianum NO FEIJÃO COMUM**

**LAVRAS – MG
2025**

FABÍOLA DE SOUSA LUNA

**BIOCONTROLE NO MANEJO DE *Colletotrichum*
lindemuthianum NO FEIJÃO COMUM**

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

Prof. Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros
Orientador

Prof. Dra. Elaine Aparecida de Sousa
Coorientador(a)

Prof. Dr. Welison Andrade Pereira
Coorientador

**LAVRAS-MG
2025**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Luna, Fabíola de Sousa.

Biocontrole no manejo de *Colletotrichum lindemuthianum* no feijão comum /
Fabíola de Sousa Luna. - 2025.

67 p. : il.

Orientador: Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros

Coorientadora: Elaine Aparecida de Sousa

Coorientador: Welison Andrade Pereira

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.

Bibliografia.

1. Antracnose. 2. Manejo integrado. 3. Feijoeiro. 4. Controle biológico. 5. *Bacillus*
sp.. I. Medeiros, Flávio Henrique Vasconcelos de. II. Sousa, Elaine Aparecida de.
III. Pereira, Welison Andrade. IV. Universidade Federal de Lavras. V. Título.

FABÍOLA DE SOUSA LUNA

**BIOCONTROLE NO MANEJO DE *Colletotrichum lindemuthianum* NO FEIJÃO
COMUM**

**BIOCONTROL IN THE MANAGEMENT OF *Colletotrichum lindemuthianum* IN
COMMON BEANS**

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

APROVADA em 25 de abril de 2025.

Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros UFLA

Dra. Elaine Aparecida de Souza UFLA

Dr. Roberto Lanna Filho UFRGS

Prof. Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros
Orientador

Profa. Dra. Elaine Aparecida de Sousa
Coorientador(a)

Prof. Dr. Welison Andrade Pereira
Coorientador

**LAVRAS-MG
2025**

*A **Deus**, Soli Deo Gloria.*

AGRADECIMENTOS

É com alegria que concluo este trabalho, na esperança de que estas páginas possam ser úteis de alguma forma a alguém. Deus sabe como foram esses últimos dois anos, e, de fato, para mim, é o que importa. A **Ele** devo tudo, a **Ele** toda glória, graças a **Ele** trago em mim uma consciência tranquila de que foram bons anos, mesmo com todas as dificuldades, e de que em tudo há um propósito, mesmo quando para nós é difícil compreendê-lo.

Ao olhar para trás, me alegro em ver o caminho que percorri. Ganhei irmãos, amigos, companheiros de jornada e novas experiências que certamente levarei comigo. De fato, “todas as coisas cooperam para o bem...” (Romanos 8:28a); foram para mim anos de muito crescimento. Sou muito grata por isso. E em tudo o que conquistei não há dúvida alguma em mim, de que aqueles que cruzaram o meu caminho nesse tempo foram prova do cuidado de Deus nessa jornada, sendo essenciais para a conclusão deste trabalho.

Agradeço primeiramente aos meus pais, Antônio e Maria, por acreditarem em mim e por sempre lutarem para que eu tivesse a oportunidade de ter um futuro. Agradeço aos meus irmãos Fabiano e Fabrina, por cuidarem de mim e estarem sempre presentes, mesmo quando a distância nos impedia de estarmos fisicamente juntos. Agradeço ao meu noivo e melhor amigo Rodrigo, por todo amor, compreensão e risadas, e por sempre me fazer lembrar do **SENHOR**, do seu propósito e bondade sobre a minha vida. Agradeço em especial aos meus irmãos da Primeira Igreja Batista de Lavras, que me receberam e acolheram com tanto amor nesse tempo; estarão sempre em minhas orações. Agradeço à minha amiga, e agora também irmã em Cristo, Ana Karoline, com quem tive o prazer de compartilhar o café, as risadas e as lutas do dia a dia; nossa amizade e irmandade seguirão sempre comigo.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Flávio Medeiros, por confiar a mim este projeto e me desafiar constantemente. Agradeço à Dra. Rafaela Guimarães; sem seu incentivo, eu não teria feito metade do que fiz. Agradeço com carinho a téc. Luísa Reis, sempre pronta a me atender quando precisei. Agradeço aos meus colegas Bárbara, Carla, Joselin e Rafael por todo o apoio nos trabalhos e pela troca de conhecimentos. Agradeço em especial a todos que compõem o GC-BIO, que tantas vezes uniram esforços para me auxiliar nas etapas mais críticas deste trabalho. Agradeço também à Prof. Elaine Sousa, ao Prof. Welison Andrade, ao doutorando Alex Naves e ao téc. Miller, do Departamento de Biologia - DBI, por todo apoio com a estrutura para o ensaio, treinamentos e orientações. Agradeço a todos com quem pude compartilhar esse tempo e desejo que **Deus** os abençoe infinitamente em todas as suas jornadas.

Por fim, agradeço imensamente a Embrapa Arroz e Feijão, por nos cederem as cultivares utilizadas no experimento; à Universidade Federal de Lavras, que foi minha casa por dois anos;

ao programa de pós-graduação em Agronomia/Fitopatologia; e, em especial, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

Em todas as circunstâncias, ***Cristo é suficiente.***

“Porque eu estou bem certo de que nem a morte, nem a vida, nem anjos, nem principados, nem as coisas do presente, nem do porvir, nem os poderes, nem a altura, nem a profundidade, nem qualquer outra criatura poderá separar-nos do amor de Deus, que está em Cristo Jesus, nosso Senhor.” (Romanos 8:38,39)

RESUMO

Ao longo dos anos, os produtos biológicos têm ganhado destaque, principalmente por proporcionarem menor impacto ambiental no controle de doenças. Entre os agentes de biocontrole disponíveis no mercado, as bactérias do gênero *Bacillus* se destacam por seus diversos mecanismos de ação, podendo ser utilizadas no manejo de resistência a doenças em várias culturas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de inibição de produtos comerciais, à base de bactérias do gênero *Bacillus* sobre o estabelecimento das raças 65 e 73 de *Colletotrichum lindemuthianum*, causador da antracnose no feijão comum. Para isso, foram realizados quatro testes de triagem em laboratório com o propósito de selecionar produtos com potencial fungicida: teste de metabólitos voláteis e líquidos, pareamento e inibição de germinação. Em seguida, os produtos selecionados foram testados em casa-de-vegetação, em 15 tratamentos com cinco repetições no delineamento em blocos casualizados (DBC), utilizando o inóculo misto das raças, em três cultivares de feijão comum com diferentes níveis de suscetibilidade ao patógeno. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, por meio do programa estatístico R-Studio. Os resultados obtidos demonstraram o potencial de inibição *in vitro* das raças 65 e 73 de *C. lindemuthianum*, por produtos biológicos à base de *Bacillus*, apresentando resultados superiores ou semelhantes ao fungicida químico à base de bixafen + prothioconazol + trifloxistrobina. O produto CCTB04 + CCTB09 + CCTB05 demonstrou maior desempenho de inibição para ambas as raças, com valores de inibição de até 63,11% para a raça 65 e 76,54% para a raça 73. Constatou-se que são necessários mais estudos relacionados à eficiência destes agentes de biocontrole em condições *in vivo* contra o agente causal da antracnose em feijão comum.

Palavras-chave: Antracnose; Manejo integrado; Feijoeiro; Controle biológico. *Bacillus* sp.

ABSTRACT

In recent years, biological products have gained prominence, mainly because they provide a lower environmental impact in disease control. Among the biocontrol agents available on the market, bacteria of the genus *Bacillus* stand out for their diverse mechanisms of action, and can be used in disease resistance management in several crops. Thus, the objective of this study was to evaluate the inhibition potential of commercial products based on bacteria of the genus *Bacillus* on the establishment of races 65 and 73 of *C. lindemuthianum*, which causes anthracnose in common beans. For this purpose, four screening tests were performed in the laboratory with the purpose of selecting products with fungicidal potential: volatile and liquid metabolites test, pairing and germination inhibition. Then, the selected products were tested in a greenhouse, in 15 treatments with five replicates in a randomized block design (RBD), using the mixed inoculum of the races, in three common bean cultivars with different levels of susceptibility to the pathogen. The data obtained were subjected to analysis of variance, with the means compared by the Tukey test at 5% probability, using the R-Studio statistical program. The results obtained demonstrated the potential for *in vitro* inhibition of races 65 and 73 of *C. lindemuthianum*, by biological products based on *Bacillus*, presenting superior or similar results to the chemical fungicide based on bixafen + prothioconazole + trifloxystrobin. The product CCTB04 + CCTB09 + CCTB05 demonstrated greater inhibition performance for both races, with inhibition values of up to 63,11% for race 65 and 76,54% for race 73. It was found that further studies are needed related to the efficiency of these biocontrol agents under *in vivo* conditions against the causal agent of anthracnose in common beans.

Keywords: Anthracnose; Integrated management; Bean plant; Biological control; *Bacillus* sp.

INDICADORES DE IMPACTO

A utilização de produtos de controle biológico para o manejo de doenças de plantas, representa uma tendência na agricultura verde, apresentando impactos expressivos de natureza social, tecnológica, econômica e ambiental, com potencial para promover transformações significativas nos sistemas produtivos agrícolas em todo o mundo. Os resultados obtidos no presente trabalho, demonstraram que o uso de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* se mostram promissores no combate a antracnose no feijão comum, apresentando potencial de inibição semelhante ou até superior aos fungicidas químicos testados. A introdução de produtos biológicos no manejo de doenças de plantas, representa um avanço tecnológico relevante, visando o aperfeiçoamento do manejo integrado de maneira mais sustentável, contribuindo diretamente na redução do uso de fungicidas sintéticos e dos custos de produção. Do ponto de vista social e ambiental, o emprego de biológicos reduz significativamente a carga de agroquímicos, contribuindo para uma maior segurança alimentar, redução dos riscos de contaminação humana e animal, maior preservação da biodiversidade microbiana e da melhoria da qualidade ambiental dos agroecossistemas. Dessa forma, os resultados deste trabalho reforçam a importância do incentivo a pesquisas voltadas para o uso e aplicação de bioprodutos, demonstrando impactos concretos e potenciais em múltiplas dimensões, promovendo a integração entre pesquisa científica, inovação tecnológica e produção agrícola. O uso de *Bacillus* spp. Como ferramenta de biocontrole no manejo da antracnose do feijão comum constitui uma estratégia de alto valor científico, social e ambiental, capaz de contribuir efetivamente para o desenvolvimento sustentável dos territórios agrícolas brasileiros.

IMPACT INDICATORS

The use of biological control products for managing plant diseases represents a trend in green agriculture, presenting significant social, technological, economic, and environmental impact, with the potential to promote significant transformations in agricultural production systems worldwide. The results obtained in this work demonstrated that the use of biological products based on bacteria of the genus *Bacillus* shows promise in combating anthracnose in common beans, presenting an inhibition potential similar to or even superior to the chemical fungicides tested. The introduction of biological products in plant disease management represents a relevant technological advance, aiming at improving integrated management in a more sustainable way, directly contributing to the reduction of synthetic fungicides and production costs. From a social and environmental point of view, the use of biologicals significantly reduces the load of agrochemicals, contributing to greater food security, reduced risks of human and animal contamination, greater preservation of microbial environmental quality of agroecosystems. Thus, the results of this work reinforce the importance of encouraging research focused on the use and application of bioproducts, demonstrating concrete and potential impacts in multiple dimensions, promoting the integration between scientific research, technological innovation, and agricultural production. The use of *Bacillus* spp. as a biocontrol tool in the management of anthracnose in common beans constitutes a strategy of high scientific, social and environmental value, capable of effectively contributing to the sustainable development of Brazilian agricultural territories.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 A cultura do feijão comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) no Brasil	15
2.2 Antracnose, <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (Sacc. & Magnus; Briosi & Cav.).....	17
2.3 Pressão de seleção e manejo de resistência de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> em feijão comum: desafios e estratégias	18
2.4 <i>Bacillus</i> spp. no manejo de resistência de doenças de parte aérea.....	20
REFERÊNCIAS	22
SEGUNDA PARTE – ARTIGO	26
1 Introdução	27
2 Material e métodos	29
2.1 Experimentos <i>in vitro</i> , testes para seleção de produtos comerciais: metabólitos versus patógeno.....	29
2.1.1 Teste de metabólitos voláteis: atividade antifúngica dos compostos orgânicos voláteis emitidos por produtos comerciais	30
2.1.2 Teste de metabólitos líquidos: atividade antifúngica dos compostos orgânicos líquidos emitidos por produtos comerciais	31
2.1.3 Teste de pareamento: atividade antifúngica de produtos comerciais	32
2.1.4 Teste de inibição de germinação: potencial de inibição de produtos comerciais na germinação de conídios de <i>C. lindemuthianum</i>	33
2.2 Experimento <i>in vivo</i> : efeito antagônico de produtos comerciais sob o estabelecimento de <i>C. lindemuthianum</i> em condições de casa-de-vegetação.....	34
2.2.1 Preparo do inóculo, inoculação e tratamentos.....	35
2.2.2 Condições em casa-de-vegetação, avaliações de produtividade e severidade da doença	36
2.3 Análise dos dados	37
3 Resultados	37
3.1 Experimentos <i>in vitro</i> , seleção dos produtos comerciais	37
3.1.1 metabólitos voláteis.....	37
3.1.2 metabólitos líquidos	38
3.1.3 Teste de pareamento	39
3.1.4 Inibição de germinação	39
3.2 Teste <i>in vivo</i> : resultados em condições de casa-de-vegetação	43

3.2.1 AACPD, experimentos 1 e 2	43
3.2.2 Produtividade	44
4 Discussão	45
5 Conclusão	50
REFERÊNCIAS	51

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um importante componente na alimentação e nutrição humana em diversos países (Borém *et al.*, 2006). No Brasil, está entre os principais grãos produzidos e consumidos, sendo parte essencial da dieta alimentar da população (Wander *et al.*, 2021). Porém, mesmo com condições favoráveis ao cultivo no país, essa cultura tem seu potencial reduzido, em parte, devido à ocorrência de doenças. Essas afetam diretamente na qualidade dos grãos produzidos, gerando perdas significativas à cultura (Sviech *et al.*, 2024).

Entre as principais doenças que acarretam prejuízos à produção destaca-se a antracnose, tendo como agente etiológico o fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus; Briosi & Cav.). Considerada a principal doença da cultura do feijão, é de grande importância socioeconômica devido a capacidade de devastar plantações de forma rápida, com perdas que podem chegar até 100% em condições de cultivar suscetível e ambiente favorável (Gadaga *et al.*, 2018; Siqueira *et al.*, 2019; Gaviria-Hernández *et al.*, 2020). A antracnose é uma doença cosmopolita, ocorrendo na maior parte das zonas produtoras do mundo, manifestando-se com maior agressividade em regiões de clima tropical e subtropical (Gaviria-Hernández *et al.*, 2020).

Os sintomas característicos da antracnose são o escurecimento das nervuras foliares e o surgimento de lesões necróticas profundas nos caules, pecíolos e vagens (Martins *et al.*, 2019; Siqueira *et al.*, 2019). Dentre as peculiaridades apresentadas por esse fitopatógeno, é necessário destacar sua ampla variabilidade genética, observada através da ocorrência de raças, com diferentes características morfológicas e culturais (Souza *et al.*, 2007; Padder *et al.*, 2017). Entre os anos 1991 a 2020, foram descritas cerca de 298 raças em 29 países, abrangendo cerca de cinco continentes: América do Norte, América do Sul, América Central, Europa, Ásia e África. Somente no Brasil foram identificadas cerca de 89 raças, das quais as mais frequentes são a 65, 73 e 81, sendo também conhecida a ocorrência de variabilidade entre isolados de uma mesma raça (Nunes *et al.*, 2021).

No manejo da antracnose, a utilização de cultivares resistentes é uma das principais medidas de controle, porém a variabilidade apresentada por seu agente causal dificulta à obtenção e durabilidade das cultivares resistentes já comercializadas (Pereira *et al.*, 2010), tornando-se uma barreira para o trabalho dos melhoristas na busca por novas cultivares comerciais. Por fim, isso resulta em um aumento na demanda por fungicidas químicos, elevando os custos de produção e estimulando a seleção de indivíduos resistentes, quando utilizados de maneira recorrente e inadequada (Sartorato, 2006; Siqueira *et al.*, 2019). Embora representem a forma mais tradicional de controle de doenças em plantas, o uso dos agroquímicos está

associado ao aumento da contaminação ambiental, gerando impactos negativos sobre a segurança alimentar, a saúde humana e animal, bem como em questões que envolvem a sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola (Serrão *et al.*, 2024).

No Brasil, o Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas (FRAC), recomenda a utilização de produtos de biocontrole associados a fungicidas com diferentes mecanismos de ação, como estratégia para o manejo da resistência de fungos fitopatogênicos no país, destacando a importância do fornecimento de cultivares com maior resistência às doenças e o desenvolvimento de agentes de biocontrole, como formas de fortalecer a abordagem do manejo integrado de doenças no Brasil (Brent *et al.*, 2007). Dessa forma, o biocontrole pode ser introduzido como uma medida no manejo de resistência, sendo também uma opção mais amigável ao meio ambiente (Sviech *et al.*, 2024).

Entre os bioagentes disponíveis no mercado, as bactérias do gênero *Bacillus* merecem destaque por seu desempenho já reconhecido. A utilização de *Bacillus*, bem como o de outras espécies relacionadas ao controle biológico de doenças de plantas, representa uma tendência da agricultura verde (Serrão *et al.*, 2024). Da perspectiva biotecnológica, esse gênero tem como principal característica seu metabolismo secundário diversificado, sendo capaz de produzir uma variedade de substâncias antagônicas (Fira *et al.*, 2018). Diante disso, o presente estudo tem por objetivo avaliar a eficácia de produtos biológicos comerciais, à base de bactérias do gênero *Bacillus*, como medida no manejo da resistência à antracnose no feijão comum.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) no Brasil

O feijão comum é uma planta herbácea anual, dicotiledônea, pertencente à família Fabaceae, gênero *Phaseolus* e espécie *Phaseolus vulgaris* L. O gênero *Phaseolus* originou-se nas Américas e possui cerca de 70 espécies, das quais apenas cinco são cultivadas (Almeida *et al.*, 2020). Dentre essas, o feijão comum é o de maior importância socioeconômica, sendo o mais antigo utilizado nos cinco continentes (Wander *et al.*, 2021). Em diversos países, essa leguminosa é considerada um alimento básico para a população, fazendo parte da culinária e da cultura local (Borém *et al.*, 2006; Sousa *et al.*, 2021).

No Brasil, graças a sua adaptabilidade e a diversidade de cultivares disponíveis no mercado, o feijão comum é produzido em maior ou menor grau em praticamente todo o território nacional, com plantios durante todo o ano, através de três safras anuais da cultura, ocorrendo muitas vezes até mesmo a sobreposição de safras, contribuindo para o contínuo abastecimento do mercado interno (Sousa *et al.*, 2021; Xavier *et al.*, 2020). No cenário da

produção mundial, o Brasil é o maior consumidor e o terceiro maior produtor do feijão comum, contando com 10% da produção mundial anual (Almeida *et al.*, 2020; CONAB, 2019). De acordo com o IBGE em previsão publicada para 2025, considerando as três safras anuais, são esperadas 3.4 milhões de toneladas colhidas do grão no país, demonstrando um aumento de 9.3% em relação à safra de 2024 (IBGE, 2025).

O feijão comum possui muitos tipos comerciais, os mais consumidos podem variar de acordo com a região, mas em geral são os tipos preto, mulatinho, carioca, roxo-rosinha e o jalinho (Sousa *et al.*, 2021). Devido às condições climáticas, o feijão do tipo caupi predomina nas regiões Norte e Nordeste, onde o clima é semiárido, com altas temperaturas e menos favorável ao tipo comum (Borém *et al.*, 2006; Sousa *et al.*, 2021), enquanto que a região Sul se destaca na colheita do feijão comum, participando com 35.81% da produção e 28.22% da área colhida total com essa leguminosa no país (Wander *et al.*, 2021). Entre os Estados produtores, o Paraná na região Sul ocupa o primeiro lugar, seguido por Minas Gerais na região Sudeste, como os dois maiores Estados produtores de feijão do país (Sousa *et al.*, 2021).

No contexto brasileiro, observa-se que o volume de importações do grão tende a ser equivalente ao de exportações; entretanto, destaca-se que as exportações se concentram predominantemente no feijão-caupi, enquanto as importações correspondem majoritariamente ao feijão comum (Wander *et al.*, 2021). Isso revela que, mesmo com boa produtividade, ainda é necessária a importação do grão para abastecimento do mercado interno. Embora o país esteja entre os maiores produtores mundiais de feijão, suas condições climáticas características de clima tropical e subtropical, favorecem o desenvolvimento de pragas e doenças, que atacam severamente a cultura, acarretando reduções significativas na produtividade e na qualidade dos grãos, tornando-se um dos entraves para o aumento da produtividade do grão no país (Xavier *et al.*, 2020).

2.2 Antracnose, *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus; Briosi & Cav.)

O agente causal da antracnose em feijão comum, classificado como *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus; Briosi & Cav.), pertence à subdivisão *Pezizomycotina*, sendo a fase perfeita identificada como ascomiceto, denominado *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli* (Kimati e Galli, 1970). Apresenta comportamento hemibiotrófico, e ataca outras espécies de leguminosas além do feijão comum, como *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus coccineus*, *Vigna unguiculata* e *Vicia faba* (Zaumeyer e Meiners, 1975).

A antracnose prevalece principalmente em regiões com alta umidade relativa do ar, acima de 91%, e temperaturas moderadas a frias, entre 13 e 27 °C, sendo comum nos plantios

“das águas” ou “safra” (Sartorato, 1985; Vechiato *et al.*, 2001; Costa *et al.*, 2017; Paula Júnior *et al.*, 2015). O agente causal se reproduz de forma assexuada, apresentando alta variabilidade genética, observada por meio da ocorrência de raças, com diferentes características morfológicas e culturais, com populações amplamente distribuídas pelo mundo, onde plantas hospedeiras são encontradas (Souza *et al.*, 2007; Gadaga *et al.*, 2018).

Em condições de cultivar suscetível e clima favorável ao desenvolvimento do patógeno, os danos podem chegar a 100% da produção, tornando a antracnose uma das doenças mais destrutivas do feijão comum (Sartorato, 1985; Siqueira *et al.*, 2019; Gaviria-Hernández *et al.*, 2020). A associação do patógeno à semente é a principal via de dispersão, sendo transportado e disseminado a longas distâncias (Gadaga *et al.*, 2018). Outros meios de propagação são as correntes aéreas, insetos, chuva, através do homem, máquinas agrícolas e restos culturais como fonte primária de infecção (Sartorato, 1985; Siqueira *et al.*, 2019).

No processo de infecção do hospedeiro, as espécies de *Colletotrichum* usam estratégias em que variam de hemibiotróficos intracelulares à necrotróficos subcuticulares, formando estruturas especializadas para penetrar no hospedeiro (Siqueira *et al.*, 2019). Os sintomas da antracnose podem ser observados por toda a parte aérea da planta, de forma característica, surgindo como: lesões necróticas de coloração marrom-escura nas nervuras da face inferior das folhas; no caule e pecíolos, como lesões profundas alongadas, escuras e deprimidas; as vagens infectadas apresentam sintomas de cancrios profundos, circulares de coloração marrom com bordas escuras, salientes e circundadas por um anel pardo-avermelhado; enquanto as sementes apresentam descoloração e lesões levemente deprimidas, de coloração marrom (Bianchini *et al.*, 1997). Devido ao avanço da doença, as lesões no caule e pecíolo levam ao anelamento completo, causando a morte da planta (Padder *et al.*, 2017).

Os sintomas surgem em até 6 dias após infecção. O ciclo da doença é iniciado entre seis e oito horas após o contato dos conídios com a planta hospedeira, em condições favoráveis à germinação (Ferreira *et al.*, 2009). A nova esporulação pode ser observada de 7 a 14 dias após infecção. O patógeno caracteriza-se por apresentar uma grande variabilidade, com mais de 50 raças fisiológicas identificadas no Brasil (Ribeiro *et al.*, 2016). No país, é observada a maior ocorrência das raças 65, 73 e 81 e também a ocorrência de variabilidade patogênica entre isolados de uma mesma raça, capazes de desestabilizar a resistência de cultivares comerciais (Damasceno e Silva, 2007). De forma peculiar, o patógeno apresenta inúmeros mecanismos de recombinação genética como a anastomose entre hifas, que ocorre durante a fase assexuada, e o ciclo parassexual (Ishikawa *et al.*, 2012). Entretanto, alguns mecanismos responsáveis pela

variabilidade genética e patogênica encontrada nesse gênero ainda não são totalmente compreendidos, necessitando de estudos mais aprofundados (Silva *et al.*, 2020).

Desse modo, o controle da antracnose deve ser preventivo, integrando medidas culturais, químicas e o uso de cultivares resistentes (Costa *et al.*, 2017). As estratégias de controle incluem, o uso de sementes limpas e certificadas, o desenvolvimento de novas cultivares comerciais, práticas culturais, como a rotação de culturas e eliminação de restos culturais, e o controle químico com o tratamento de sementes e da parte aérea da planta (Sartorato, 2006; Damasceno e Silva, 2007), na qual se destaca o uso de princípios ativos dos grupos triazol, estrobilurina, benzimidazol e organoestânico (Gontijo Neto *et al.*, 2016; Sviech *et al.*, 2024).

2.3 Pressão de seleção e manejo de resistência de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão comum: desafios e estratégias

O manejo da antracnose é desafiador, especialmente devido à pressão de seleção imposta através do uso contínuo de estratégias de controle (Sartorato, 2006; Siqueira *et al.*, 2019; Dallagnol *et al.*, 2021). A seleção de indivíduos resistentes de *C. lindemuthianum*, que já ocorre de forma natural, pode ser acelerada por práticas de manejo inadequadas (Siqueira *et al.*, 2019), como a ausência de rotação de ingredientes ativos, aplicação de doses acima ou abaixo do recomendado e a não adoção de um manejo integrado, dificultando ainda mais o manejo da doença. O uso de estratégias de controle alternativas aos agroquímicos, de forma combinada ou isolada, pode auxiliar no manejo de doenças de forma mais sustentável na cultura do feijão, melhorando o seu rendimento (Gontijo Neto *et al.*, 2016).

O uso de cultivares resistentes no manejo de doenças em plantas é o método mais eficiente e seguro, proporcionando melhor custo-benefício, menor impacto ambiental e maior aceitação do mercado consumidor, em comparação com outros métodos de controle. Contudo, ao longo da história, a agricultura passou por uma série de transformações para atender às crescentes demandas. As áreas cultivadas passaram a ser ocupadas por monoculturas geneticamente idênticas, contendo genes de resistência, que com o passar do tempo e a pressão de seleção imposta sobre a população de patógenos, favoreceram o surgimento de variantes genéticas que suplantaram rapidamente os mecanismos de defesa presentes em cultivares comerciais. Desse modo, algumas estratégias são propostas no intuito de retardar essa situação e prolongar a durabilidade desses genes de resistência, como: a rotação de genes, a piramidação de genes R, o uso de multilinhas, a mistura de cultivares ou diversificação espacial. No entanto, barreiras como a aceitação por parte dos produtores e a inviabilidade técnica e econômica da

implementação dessas estratégias, tornam algumas delas desvantajosas para os agricultores (Dallagnol *et al.*, 2021).

Devido à baixa durabilidade da resistência de cultivares comerciais, a demanda por fungicidas químicos aumenta. O uso sistemático de fungicidas, além de elevar os custos da produção, pode selecionar espécies de patógenos resistentes quando aplicado de forma recorrente e inadequada, dificultando ainda mais o manejo da doença (Siqueira *et al.*, 2019). Além disso, a ocorrência de resistência aos fungicidas tem se tornado uma das questões mais importantes na agricultura moderna (Deising *et al.*, 2008). Nem mesmo os fungicidas têm “resistido” à variabilidade dos patógenos em campo. Devido ao uso contínuo e exacerbado, é compreensível que seu desempenho em campo seja reduzido em decorrência da seleção de isolados resistentes (Sartorato, 2006). Nos últimos anos, somado a baixa eficiência, os agroquímicos sofreram uma série de restrições, devido à ausência de doses consideradas seguras para a saúde humana e animal, resultando em uma proibição crescente de produtos já existentes e na diminuição de novos registros (Raymaekers *et al.*, 2020).

Em janeiro de 2012, o fungicida conhecido popularmente como carbendazim, foi notícia internacional, quando os EUA proibiram a importação do suco de laranja brasileiro devido à presença desse fungicida. Além de ser alvo de estudos que apontam seu alto potencial carcinogênico, juntamente com outros fungicidas, como o benomyl, que também tem sido apontado com efeitos nocivos à fertilidade humana (Silva *et al.*, 2014; IUPAC, 2016). Ambos, carbendazim e benomyl, são fungicidas sistêmicos indicados para diversas doenças da parte aérea, como a mancha-angular (*Phaeoisariopsis griseola*) e a antracnose (*C. lindemuthianum*) na cultura do feijão (Sartorato, 1985; Sartorato, 2006). Em 2022, a ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, anunciou sete defensivos agrícolas em reavaliação. A decisão foi estabelecida a partir de critérios de riscos à saúde humana, em especial aos consumidores e trabalhadores rurais, com base em evidências de carcinogenicidade, alterações no DNA humano, mutações, problemas reprodutivos e endócrinos, entre outros. Após análise, ainda em 2022 a ANVISA anunciou a decisão pelo banimento do ingrediente ativo carbendazim no Brasil (ANVISA, 2022).

A utilização de outras estratégias de controle, que possam somar como medidas no manejo de forma isolada ou combinada, podem contribuir para o combate de doenças em plantas de forma mais eficiente, visando o aumento da produtividade (Gontijo Neto *et al.*, 2016). Nesse contexto, o controle biológico tem ganhado cada vez mais espaço como ferramenta no manejo de doenças. Graças aos seus diversos mecanismos de ação e à sua sustentabilidade (Alabouvette *et al.*, 2006), apresentam menor risco de contaminação ambiental, maior

segurança alimentar, podendo auxiliar na redução da pressão de seleção de patógenos em campo.

2.4 *Bacillus* spp. no manejo de resistência de doenças de parte aérea

Nos últimos anos, houve um aumento significativo no interesse por produtos de biocontrole devido à necessidade de estratégias mais sustentáveis e que reduzissem o uso massivo de pesticidas químicos (Ongena e Jacques, 2007), ao mesmo tempo, em que há uma demanda da sociedade por alimentos mais saudáveis, com menor contaminação por resíduos químicos e uma grande preocupação com os impactos ambientais (Alabouvette *et al.*, 2006; Raymaekers *et al.*, 2020).

Atualmente, o biocontrole de doenças de plantas é considerado uma prática de manejo auxiliar aos agroquímicos. Os agentes de biocontrole podem ser organismos vivos ou agentes não vivos de origem biológica. Os organismos vivos utilizados, geralmente são inimigos naturais de fitopatógenos, como vírus, bactérias, fungos e nematoides. Enquanto os agentes não vivos compreendem semioquímicos, como feromônios, voláteis e outros produtos bioquímicos que podem ser extraídos ou produzidos por plantas e microrganismos (Raymaekers *et al.*, 2020). A atuação de agentes de controle biológico pode ocorrer por meio de diferentes mecanismos, como competição por espaço e nutrientes, antibiose ou indução de resistência da planta hospedeira (Köhl *et al.*, 2019).

Entre os agentes de biocontrole já utilizados no mercado, as bactérias do gênero *Bacillus* estão entre os mais conhecidos. Esse gênero representa um grande grupo de bactérias do tipo Gram-positivas, que pertencem ao filo Firmicutes. São bactérias com formato de bastonete, formadoras de endósporos, catalase positiva com metabolismo aeróbico ou anaeróbico facultativo (Fira *et al.*, 2018). A capacidade de formar esporos é uma das características que torna esse gênero um excelente ingrediente ativo para a produção de biopesticidas. Os endósporos proporcionam um alto nível de resistência a altas temperaturas e desidratação, características desejáveis para a formulação de produtos estáveis (Ongena e Jacques, 2007), podendo ser utilizados nas condições inóspitas de campo, principalmente no controle de doenças de parte aérea. A eficácia como agentes de biocontrole das espécies de *Bacillus* está ligada a três mecanismos principais, como (i) a capacidade de se estabelecer em tecidos vegetais, em que previnem ou reduzem a colonização de microrganismos patogênicos por meio da competição por espaço e nutrientes, (ii) a antibiose, produção de substâncias antagônicas a patógenos microbianos (iii) e a ativação de resistência sistêmica na planta hospedeira (Anckaet *et al.*, 2022).

No manejo de doenças de parte aérea, espécies de *Bacillus* são capazes de promover a proteção por competição, ao colonizar a parte aérea de forma eficiente, além da produção de compostos antimicrobianos, como os lipopeptídeos (surfactinas, iturinas e fengicidas), capazes de inibir o crescimento de patógenos, formando uma barreira biológica. Além disso, esse gênero ainda consegue produzir enzimas capazes de degradar a parede celular de fitopatógenos, dificultando o seu crescimento e invasão na planta hospedeira (Alabouvette *et al.*, 2006; Ongena e Jacques, 2008; Anckaet *et al.*, 2022). As surfactinas, iturinas e fengicidas, que são produzidas por espécies de *Bacillus*, possuem efeito antagônico, enquanto a surfactina ainda desempenha um papel fundamental na interação entre essas bactérias e as plantas, ativando mecanismos de defesa da planta hospedeira, o que é chamado de indução de resistência (Fira *et al.*, 2018; Ongena e Jacques, 2008; Anckaet *et al.*, 2022).

Quando utilizados em sistema integrado de manejo, os produtos à base de *Bacillus* demonstraram eficiência no controle de fitopatógenos, podendo ser aplicados em consórcio com outros produtos (Sviech *et al.*, 2024). Demonstrando assim, um potencial uso como estratégia no manejo da resistência a doenças de plantas. A resistência a doenças de parte aérea como a antracnose, é um problema crescente nas lavouras, em função do uso intensivo de fungicidas sistêmicos e ausência de práticas de manejo integrado. O uso de *Bacillus* no manejo de doenças de parte aérea é uma estratégia viável, que se alinha com a busca por práticas agrícolas mais sustentáveis. A integração desses agentes de biocontrole em sistemas de manejo integrado de doenças, associados a um maior conhecimento sobre interações específicas entre antagonista, patógeno e planta hospedeira, irá contribuir com o avanço de tecnologias mais seguras e eficientes no controle de doenças e manejo de resistência de patógenos em campo (Raymaekers *et al.*, 2020).

REFERÊNCIAS

- ALABOUVETTE, C.; OLIVAIN, C.; STEINBERG, C. **Biological control of plant diseases: the European situation**. European Journal of Plant Pathology, v.114, p.329-341, 2006.
- ALMEIDA, C. P.; PAULINO, J. F. C.; CARBONELL, S. A. M.; CHIORATO, A. F.; SONHG, Q.; VITTORI, V. D.; RODRIGUEZ, M.; PAPA, R.; BENCHIMOL-REIS, L. **Genetic diversity, population structure, and andean introgression in Brazilian common bean cultivars after half a century of genetic breeding**. Genes, v. 11, n. 1298, 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Carbendazim: Anvisa concluiu processo de reavaliação e mantém o banimento**. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/carbendazim-anvisa-concluiu-processo-de-reavaliacao-e-mantem-o-banimento>. Acesso em: 17 mar. 2025.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Anvisa coloca sete defensivos agrícolas em reavaliação**. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias->

- anvisa/2022/carbendazim-anvisa-concluiu-processo-de-reavaliacao-e-mantem-o-banimento. Acesso em: 17 mar. 2025.
- ANCKAET, A.; ARIAS, A. A.; HOFF, G. CALONNE-SALMON, M.; DECLERCK, S.; ONGENA, M. **The use of *Bacillu spp.* as bacterial biocontrol agents to control plant diseases.** In: KÖHL, J. RAVENSBERG, W. Microbial bioprotectans for plant disease management. Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge, Reino Unido, p. 1-54, 2022.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. **Doenças do feijoeiro.** In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; FILHO, A. B.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. Manual de Fitopatologia. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 1995 – 1997. 2v, 1997, p. 353-376.
- BORÉM, A.; CARNEIRO, J. E. S. **A Cultura.** In: VIEIRA, C.; JÚNIOR, T. J. P.; BORÉM, A. Feijão. 2.ed. Atual, Viçosa: Ed. UFV, p.13-18, 2006.
- BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed.** 2. ed. FRAC, Belgium. p. 57, 2007.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos: Safra 2018/19 - Décimo Segundo Levantamento.** Acomp. safra. bras. grão, v.6, p. 1-104, 2019. ISSN: 2318-6852.
- COSTA, L. C.; NALIN, R. S.; RAMALHO, M. A.; SOUZA, E. A. **Are duplicated genes responsible for anthracnose resistance in common bean?** Plos One, v. 12, n. 3, 2017.
- DAMASCENO e SILVA, K.J.; SOUZA, E.A.; ISHIKAWA, F.H. **Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* Isolates from the State of Minas Gerais, Brazil.** Journal of Phytopathology, v.155, n.4, p.241-247, 2007.
- DALLAGNOL, L. J.; DORNELES, K. R. **Resistência genética da planta a agentes patogênicos.** In: RIOS, J. A.; ALMEIDA, L. C.; SOUZA, E. B. Resistência de plantas a patógenos. Recife-PE: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1 ed., p. 8-45 2021.
- DEISING, H. B.; REIMAN, S.; PASCHOLATI, S. F. **Mechanisms and significance of fungicide resistance.** Brazilian Journal of Microbiology, v. 39, p. 286-295, 2008. ISSN 1517-8382.
- FERREIRA, J. B.; ABREU, M. S.; ALVES, E.; PEREIRA, I. S.; FERNANDES, K. D. **Eventos do processo de infecção de *Colletotrichum gloeosporioides* inoculados em folhas de *Coffea arabica* L.** Summa Phytopathol, v. 35, n. 4, p. 273-281, 2009.
- FIRA, D. *et al.* **Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species.** Journal of biotechnology, Amsterdam, v. 10, n 1, p. 44-55, 2018.
- GADAGA, S. J. C.; SIQUEIRA, C. S.; MACHADO, J. C. **Deteção molecular de *Colletotrichum lindemuthianum* em amostras de sementes de feijão.** Journal of Seed Science, v. 40, n. 4, p. 370-377, 2018.
- GAVIRIA-HERNÁNDEZ, V.; ZABOT, G.; PINEL-ALVAREZ, M. F.; ALVES, M.; ANTUNES, I. F.; FARIAS, C. R. J. **Variabilidade patogênica multiespóricas e monospóricas de *C. lindemuthianum* em plântulas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*).** Braz. J. of Develop, Curitiba, V. 6, n.11, p. 88300-88315, 2020.
- GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; THOMAZELLA, C.; VIDIGAL FILHO, P. S.; KVITSCHAL, M. V.; ELIAS, H. T. **Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* Isolates Using Differential Cultivars of Common Bean in Santa Catarina State, Brazil.** Brazilian archives of biology and technology, v. 51, n. 5. p. 883-888, 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **IBGE prevê safra de 322,6 milhões de toneladas para 2025, com crescimento de 10,2% frente a 2024.** IBGE notícias, 14 jan. 2025. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/42436-ibge-preve-safra-de-322-6-milhoes-de-toneladas-para-2025-com-crescimento-de-10-2-frente-a-2024>. Acesso em: 15 de mar. 2025.

- GONTIJO NETO, G. F.; ANDRADE, M. J. B.; POZZA, E. A.; MARTINS, F. A. D.; SOARES, B. L.; BELAN, L. L.; CARDILHO, B. E. S. **Controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro comum com indutores de resistência**. Nucleus, v.13, n. 2, out. 2016.
- ISHIKAWA, F. H.; SOUZA, E. SHOJI, J.; CONNOLLY, L.; FREITAG, M.; LEIA, N. D.; ROCA, M. G. **Heterokaryon incompatibility is suppressed following conidial anastomosis tube fusion in a fungal plant pathogen**. Plos One, v. 7, n.2, 2012.
- INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **A to Z List of Pesticide Active Ingredients**. 2016. Disponível em: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm>. Acesso em: 17 mar. 2025.
- KIMATI, H.; GALLI, F. *Glomerella cingulata* (stonem.) spauld. et v. schrenk. f. sp. *phaseoli* n. f., fase ascogena do agente causal da antracnose do feijoeiro. **Anais da E.S.A. “Luiz de Queiroz”**, v. 27, 1970, p. 411-437.
- KÖHL, J.; KOLNAAR, R.; RAVENSBERG, W. J. **Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy**. Frontiers in Plant Science, v.10, 2019.
- MAPHOSA, Y.; JIDEANI, V. A. **The Role of Legumes in Human Nutrition**. In: Functional Food-Improve Health through Adequate Food, 2017.
- MARTINS, Samuel Júlio *et al.* **Microbial volatiles organic compounds control anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Elsevier, Biological control, v. 131, 2019, p. 36-42.
- NUNES, Maria Paula Barion A. *et al.* **Relationship of *Colletotrichum lindemuthianum* races and resistance loci in the *Phaseolus vulgaris* L. genome**. Crop Science, v. 61, 2021, p. 3877-3893.
- ONGENA, M.; JACQUES, P. **Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol**. Trends in Microbiology, Elsevier, v. 16, n.3, 2007, p. 115-125.
- PADDER, B. A.; SHARMA, P. N.; AWALE, H. E.; KELLY, J. D. ***Colletotrichum lindemuthianum*, the causal agent of bean anthracnose**. Journal of Plant Pathology, v. 99 (2), 2017, p. 317-330.
- PAULA JÚNIOR, Trazilbo José de *et al.* **Doenças do feijoeiro: estratégias integradas de manejo**. In: CARNEIRO, J. E.; PAULA JÚNIOR, T. J. DE; BORÉM, A. (Eds.). Feijão: do plantio à colheita. Viçosa: UFV, 2015. p. 384.
- PAULA JÚNIOR, T. J.; ZAMBOLIM, L. **Doenças**. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. Feijão. Viçosa: UFV, 2 ed. p. 359-414, 2006.
- PEREIRA, R.; ISHIKAWA, F. H.; PINTO, J. M. A.; SOUZA, E. A. Occurrence of anthracnose in common bean cultivars collected in the state of Minas Gerais - Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Lavras-MG, v. 53, p. 224-225, 2010.
- PINTO, J. M. A.; PEREIRA, R.; MOTA, S. F.; ISHIKAWA, F. H.; SOUZA, E. A. **Investigating phenotypic variability in *Colletotrichum lindemuthianum* populations**. Phytopathology, v. 102, n. 5, p. 490–497, 2012.
- RAYMAEKERS, K.; PONET, L.; HOLTAPPELS, D.; BERCKMANS, B.; CAMMUE, B. P. A. **Screening for novel biocontrol agents applicable in plant disease management - A review**. Biological Control, 144, p. 1–18, 2020.
- RIBEIRO, T.; ESTEVES, J. A. F.; SILVA, D. A.; GONÇALVES, J. G. R.; CARBONELL, S. A. M.; CHIORATO, A. F. **Classification of *Colletotrichum lindemuthianum* races in differential cultivars of common bean**. Acta Scientiarum, Maringá, v. 38, n. 2, 2016, p.179-184.
- SARTORATO, A. **Sensibilidade “in vitro” de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas**. Pesquisa Agropecuária Tropical, v. 36, n. 3, p. 211-213, 2006.

- SARTORATO, A. **Feijão, doenças causadas por fungos**. Inf. Agropec., Belo Horizonte, v. 11, n. 131, p. 76-77, 1985.
- SERRÃO, C. P.; ORTEGA, J. C.G.; RODRIGUES, P. C.; SOUZA, C. R. B. **Espécies de *Bacillus* como ferramentas para o biocontrole de doenças de plantas: uma meta-análise de vinte e dois anos de pesquisa, 2000-2021**. World J Microbiol Biotechnol, v. 40, p.110, 27 fev. 2024.
- SILVA, L. L.; MORENO, H. L. A.; CORREIA, H. L. N.; SANTANA, M. F.; QUEIROZ, M. V. ***Colletotrichum*: species complexes, lifestyle, and peculiarities of some sources of genetic variability**. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 104, p.1891-1904, 2020.
- SILVA, R. C. S.; BARROS, K. A.; PAVÃO, A. C. **Carcinogenicidade do Carbendazim e seus metabólitos**. Quim. Nova, v. 37, n. 8, p. 1329-1334, 2014.
- SIQUEIRA, I. T. D.; CRUZ, L. R.; SOUZA-MOTTA, C. M.; MEDEIROS, K. A. **Induction of acibenzolar-S-methyl resistance in cowpea to control anthracnose**. Summa Phytopathologica, v.45, n.1, p. 76-82, 2019.
- SOUZA, I. S. F.; FERREIRA, C. M. **Aspectos histórico-culturais do arroz e do feijão na sociedade brasileira**. In: FERREIRA, C. M.; BARRIGOSI, J. A. F. Arroz e feijão: tradição e segurança alimentar. Brasília, DF: Embrapa Arroz e Feijão, p. 81-100, 2021. ISSN: 2316-1809.
- SOUZA, B. O.; SOUZA, E. A.; MENDES-COSTA, M. C. **Determinação da variabilidade em isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* por meio de marcadores morfológicos e culturais**. Ciênc. agrotec., Lavras-MG, v. 31, n. 4, p. 1000-1006, jul./ago., 2007.
- SVIECH, L.; FARIA, C. M. D. R.; SANTOS, L. A.; SVIECH, K. D. **Manejo da antracnose do feijão: interação entre produtos biológicos e químicos**. Contribuciones a las Ciencias Sociales, São José dos Pinhais, v. 17, n. 13, p. 01-xx, 2024.
- ONGENA, M.; JACQUES, P. ***Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol**. Trends in Microbiology, v. 16, n. 3, p. 115-125, 2008.
- VECHIATO, M. H.; LASCA, C. C.; KOHARA, E. Y.; CHIBA, S. **Antracnose do feijoeiro: tratamento de sementes e correlação entre incidência em plantas e infecção de sementes**. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v. 68, n.1, p. 83-87, 2001.
- WANDER, A. E.; SILVA, O. F.; FERREIRA, C. M. **O arroz e o feijão no Brasil e no mundo**. In: FERREIRA, C. M.; BARRIGOSI, J. A. F. Arroz e feijão: tradição e segurança alimentar. Brasília, DF: Embrapa Arroz e Feijão, p. 81-100, 2021. ISSN: 2316-1809.
- XAVIER, L. F. S.; POLETINE, J. P.; BRONDANI, S. T.; BARELLI, A. A.; SILVA, V. P. **Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão comum no estado do Paraná**. Journal of Agronomic Sciences, Umuarama, v.9, n. especial, p. 221-245, 2020.
- ZAUMEYER, W. J.; MEINERS, J. **Disease resistance in beans**. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, v. 13, p. 313-334, 1975.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

BIOCONTROLE NO MANEJO DE *Colletotrichum lindemuthianum* NO FEIJÃO COMUM

Resumo

A antracnose, é uma das principais doenças fúngicas responsáveis pela redução da produção do feijão comum no Brasil. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de inibição de produtos comerciais, à base de bactérias do gênero *Bacillus* sobre o estabelecimento de *C. lindemuthianum*, causador da antracnose em feijão comum. Os resultados obtidos demonstraram o potencial de inibição *in vitro* das raças 65 e 73 de *C. lindemuthianum*, por produtos biológicos à base de *Bacillus* em até 70 %, apresentando resultados superiores ou semelhantes ao fungicida químico composto por bixafen + protioconazol + trifloxistrobina. O produto biológico composto pela mistura das cepas CCTB04 + CCTB09 + CCTB05, demonstrou maior desempenho de inibição para ambas as raças. Constatou-se que são necessários mais estudos relacionados à eficiência destes agentes de biocontrole em condições *in vivo* contra o agente causal da antracnose em feijão comum.

Palavras-chave: Antracnose. Manejo integrado. Feijoeiro. Controle biológico. *Bacillus* sp.

1 Introdução

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a leguminosa mais importante como fonte de proteína vegetal para a população brasileira. No país, o clima favorece o cultivo em praticamente todo ano. Entretanto, as condições ambientais também influenciam favorecendo a ocorrência de

22 doenças, as quais estão entre os principais fatores responsáveis pela diminuição da
23 produtividade dessa cultura no Brasil (Paula Júnior e Zambolim, 2006).

24 A antracnose, causada por *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus; Briosi & Cav.),
25 é considerada uma das doenças fúngicas de maior importância para a cultura do feijão comum,
26 principalmente, devido à sua capacidade de provocar danos em um curto período de tempo,
27 chegando a causar perdas de até 100% da produção, quando em associação com cultivar
28 suscetível, clima favorável e ausência de técnicas integrativas de manejo (Damasceno e Silva,
29 *et al.*, 2007; Paula Júnior *et al.*, 2015; Sviech *et al.*, 2024). Esse fitopatógeno é um parasita
30 cosmopolita, com ocorrência mais acentuada na região Sul do país, devido às condições
31 climáticas serem mais favoráveis, uma vez que a doença se desenvolve melhor em clima frio e
32 úmido (Oliveira *et al.*, 2014).

33 O patógeno é responsável por causar lesões necróticas de coloração marrom-escura, que podem
34 ser observadas por toda a planta, incluindo vagens e sementes (Bianchini *et al.*, 1997; Dean *et*
35 *al.*, 2012). A utilização de cultivares resistentes constitui a medida de controle mais viável
36 economicamente, porém a ampla variabilidade genética apresentada por esse patógeno dificulta
37 a obtenção e durabilidade dos mecanismos de resistência presentes em cultivares comerciais
38 (Pinto *et al.*, 2012). Essa variabilidade pode ser observada por meio de isolados com diferentes
39 características morfológicas e culturais (Sousa *et al.*, 2007). Somente no Brasil, já foram
40 relatadas nos últimos anos mais de 50 raças, havendo também o conhecimento de variabilidade
41 entre isolados de uma mesma raça de *C. lindemuthianum* (Ribeiro *et al.*, 2016). E entre as raças
42 mais encontradas no país, estão as raças 65 e 73 (Damasceno e Silva, 2007).

43 Devido a isso, ocorre o aumento da demanda por agroquímicos, que acabam por elevar os custos
44 de produção e auxiliam na seleção de indivíduos resistentes, quando aplicados de forma
45 inadequada, tornando ainda mais desafiador o manejo da doença (Siqueira *et al.*, 2019). Além

disso, nos últimos anos, são cada vez mais relatados problemas relacionados à baixa eficiência de fungicidas em campo, isso se dá devido ao uso exacerbado de produtos com o mesmo ingrediente ativo e a ausência de um manejo integrativo eficiente (Sartorato, 2006; Raymaekers *et al.*, 2020).

O Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas (FRAC), recomenda a utilização do biocontrole, somado ao uso de fungicidas com diferentes mecanismos de ação como estratégia para o manejo de resistência. A FRAC, também aponta o desenvolvimento de novos agentes de biocontrole como meios de fortalecer a abordagem do manejo integrado de doenças no país (Brent *et al.* 2007). Um estudo desenvolvido por Sviech *et al.* (2024), demonstrou maior eficiência no controle e maior produtividade final para os tratamentos com integração entre biológicos à base de *Trichoderma sp.* e *B. subtilis*, em consórcio com fungicidas químicos no manejo da antracnose na cultura do feijão.

Desse modo, o uso de biológicos demonstra ser uma estratégia ímpar, capaz de ser introduzida no manejo de doenças, proporcionando baixo impacto ambiental, maior segurança alimentar e ainda um controle eficiente. Diante disso, o presente estudo tem por objetivo avaliar a eficácia de produtos biológicos comerciais, à base de bactérias do gênero *Bacillus*, como ferramentas no manejo de resistência ao fungo *C. lindemuthianum*, agente causal da antracnose em feijão comum.

2 Material e métodos

2.1 Experimentos *in vitro*, testes para seleção de produtos comerciais: metabólitos versus patógeno

Os experimentos *in vitro* foram realizados no laboratório de Controle Biológico, do Departamento de Fitopatologia - UFLA. Os isolados LV238 e CL1143, identificados

respectivamente como as raças 65 e 73, de *Colletotrichum lindemuthianum*, foram disponibilizados da micoteca pertencente ao Laboratório de Resistência de Plantas à Doenças, do Departamento de Biologia - UFLA. Ambos os isolados foram previamente caracterizados, por meio do uso de cultivares diferenciadoras.

Os testes em laboratório compreenderam etapas de seleção para os produtos que seriam avaliados *in vivo*, sob condições de casa-de-vegetação. Os produtos avaliados consistiram em dois biológicos comerciais: bio-imune (*Bacillus velezensis* - BV02) da empresa Vittia Fertilizantes e Biológicos S.A., e o bombardeiro (*Bacillus subtilis* - CCTB04 + *Bacillus velezensis* - CCTB09 + *Bacillus pumilus* - CCTB05) fabricação da Biotrop, ambos multissítio biológico a base de bactérias do gênero *Bacillus*, recomendados para o manejo de doenças de parte aérea; e dois fungicidas químicos comerciais: Fox Xpro (bixafen + protioconazol + trifloxistrobina) produzido pela Bayer e cercobin 875 WG (tiofanato-metílico) fabricado pela IHARA, ambos fungicidas sistêmicos, utilizados de forma preventiva contra diversas doenças de parte aérea, incluindo a antracnose do feijoeiro.

Os testes *in vitro* consistiram em: teste de metabólitos voláteis e líquidos, pareamento e teste de inibição de germinação. A atividade antifúngica dos produtos foi avaliada separadamente para cada uma das raças.

2.1.1 Teste de metabólitos voláteis: atividade antifúngica dos compostos orgânicos voláteis emitidos por produtos comerciais

A metodologia empregada foi baseada em González-Pérez *et al.* (2024), com adaptações. O ensaio consistiu na utilização de placas de Petri, por meio do método de placa invertida, proposto por You *et al.* (2022). Em placas de Petri contendo meio AN (água nutritiva), foram pipetados 100 µL dos produtos comerciais testados, 48 horas antes da montagem do

experimento. As concentrações utilizadas seguiram as recomendações indicadas segundo a bula (Bio-imune: 0,25 a 2,0 L/ha; Bombardeiro: 0,1 a 0,8 L/ha; Cercobin: 700 g/ha; Fox Xpro: 0,5 L/ha).

Após 48 horas da montagem com os produtos testados, em placas de Petri de 9 cm contendo meio BDA (200 g de batata, 20 g de ágar e 20 g de dextrose para 1 L de água destilada), foram dispostos ao centro da placa discos de 5mm de crescimento puro dos fitopatógenos, *C. lindemuthianum*, raças 65 e 73, separadamente, cultivados em BDA com aproximadamente 10 dias de idade. Em seguida, as placas contendo os produtos foram pareados sobre aquelas contendo o disco do fitopatógeno (You *et al.*, 2022). As placas foram então seladas com parafilme, evitando o escape dos compostos orgânicos voláteis (COV) emitidos pelos produtos.

O tratamento controle consistiu no cultivo dos fitopatógenos em placas com BDA, sem qualquer interação com os produtos. As placas foram incubadas por 15 dias a temperatura em torno de $\pm$ 24 °C e fotoperíodo de 12 horas. O halo de crescimento fúngico foi aferido diariamente. O experimento foi realizado com 10 tratamentos e 5 repetições, em DIC (delineamento inteiramente casualizado).

2.1.2 Teste de metabólitos líquidos: atividade antifúngica dos compostos orgânicos líquidos emitidos por produtos comerciais

Na elaboração do teste de metabólitos líquidos, os produtos comerciais biológicos foram submetidos a centrifugação, com objetivo de realizar a separação das células bacterianas vivas do sobrenadante, contendo a formulação do produto e os metabólitos líquidos produzidos pelas bactérias. Os produtos foram transferidos para tubos eppendorf de 2 mL e centrifugados a 15.000 rpm, por 5 minutos, sendo realizada uma pipetagem do sobrenadante para um novo tubo a cada centrifugação, sendo repetido o processo por três vezes. Em seguida, o sobrenadante

obtido foi filtrado em filtro de 0.22 μm , para garantir a separação total dos metabólitos líquidos das células bacterianas vivas presentes nos produtos.

Os fungicidas químicos, por sua vez, foram diluídos com auxílio de vortex e filtrados em filtros de 0.22 μm , para evitar a presença de contaminantes. Em seguida, todos os produtos foram ajustados à concentração indicada em bula. Após filtração e diluição, 100 μL dos químicos e sobrenadantes biológicos foram pipetados, separadamente, na superfície de placas de Petri contendo meio BDA, sendo imediatamente espalhados com a alça de Drigalski. Após 24 horas, foram dispostos ao centro das mesmas placas, discos de 5 mm dos fitopatógenos cultivados em BDA, raças 65 e 73 de *C. lindemuthianum*, separadamente, com aproximadamente 10 dias de idade.

O tratamento controle consistiu no cultivo dos fitopatógenos em BDA, sem qualquer interação com os químicos ou com os sobrenadantes dos produtos biológicos, e na pipetagem dos produtos testados em placas contendo AN, sem interação com os fitopatógenos, com o objetivo de garantir que houve a separação dos metabólitos líquidos e a ausência de células bacterianas vivas ou outros contaminantes. As placas foram seladas e avaliadas diariamente, sendo aferido o crescimento micelial do fitopatógeno por 15 dias, à $\pm 24^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. O experimento foi realizado com 14 tratamentos, considerando os controles, com 5 repetições em DIC.

2.1.3 Teste de pareamento: atividade antifúngica de produtos comerciais

Em placas de Petri com meio BDA, foram dispostos ao centro discos de 5 mm contendo o crescimento puro dos isolados das raças 65 e 73 de *C. lindemuthianum*, separadamente, cultivados em BDA com aproximadamente 10 dias de idade. Em quatro pontos adjacentes da mesma placa, foram pipetados 10 μL dos produtos comerciais com concentrações ajustadas segundo a bula. As placas foram seladas e incubadas a $\pm 24^\circ\text{C}$ com fotoperíodo de 12 horas

(Raymaekers *et al.*, 2020). O progresso do crescimento micelial dos fungos foi mensurado diariamente por 15 dias. A testemunha consistiu no cultivo dos fungos, em BDA, sem qualquer interação com os produtos. O experimento contou com 10 tratamentos e 5 repetições, em DIC.

2.1.4 Teste de inibição de germinação: potencial de inibição de produtos comerciais na germinação de conídios de *C. lindemuthianum*

A metodologia empregada foi baseada em Duhatschek *et al.* (2017) com adaptações, utilizando-se o método de placa de Elisa com 96 poços, com leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de 490 e 750 nm, relacionados respectivamente à atividade mitocondrial e ao crescimento micelial (Perrony *et al.*, 2023).

Os produtos testados foram inicialmente diluídos com auxílio de bailarina em agitador magnético, já em concentrações indicadas para aplicação em campo, de acordo com a bula. Antecedendo ao plaqueamento, todos os produtos utilizados foram filtrados em filtros de 5.0 µm, com o objetivo de remover possíveis sujidades que pudessem interferir na leitura em espectrofotômetro. A suspensão de conídios foi elaborada por meio da raspagem de vagens de feijão verdes imersas em ágar-água (20 g de ágar para 1 L/água destilada), previamente inoculadas com as raças 65 e 73 de *C. lindemuthianum*, separadamente, mantidas em BOD por 10 dias no escuro. A suspensão foi filtrada em gaze e ajustada a concentração para $1,2 \times 10^6$ conídios/mL, utilizando água destilada estéril (Damasceno e Silva *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2014).

Os tratamentos consistiram na pipetagem de 100 µL de água (destilada e esterilizada) + 100 µL do produto + 100 µL da suspensão de esporos do fitopatógeno. As raças de *C. lindemuthianum* foram avaliadas separadamente. Os tratamentos controle consistiram na pipetagem de 100 µL de água + 100 µL da suspensão de esporos, sem qualquer contato com os produtos, e em 100

166 μL de água + 100 μL do produto testado, sem contato com a suspensão de esporos. Os controles
167 foram utilizados como padrão para os descontos na leitura, a fim de observar a diferença na
168 absorbância entre os tratamentos.

169 As leituras em espectrofotômetro foram realizadas em 6 tempos (6, 8, 10, 12, 24 e 48 horas)
170 após a montagem em placa de Elisa. Após a montagem, as placas foram mantidas à $\pm 24^\circ\text{C}$ no
171 escuro, e agitadas em centrífuga antes de cada leitura (Perrony *et al.*, 2023). O experimento foi
172 realizado com 10 tratamentos e 5 repetições, cada poço correspondendo a uma repetição.

173
174 *2.2 Experimento in vivo: efeito antagônico de produtos comerciais sob o estabelecimento de C.*
175 *indemuthianum, em condições de casa-de-vegetação*

176 O trabalho foi realizado na Universidade Federal de Lavras - UFLA, localizada na cidade de
177 Lavras, região Sul de Minas Gerais, nas instalações do Departamento de Biologia, em parceria
178 com o Laboratório de Resistência de Plantas à Doenças. O teste *in vivo* foi conduzido em
179 duplicata, com intervalo de sete dias entre os experimentos 1 e 2.

180 As cultivares utilizadas foram selecionadas por meio de teste de patogenicidade, realizado em
181 duplicata. Foram selecionadas três cultivares com diferentes níveis de suscetibilidade ao
182 patógeno: a BRS Esplendor (resistente), BRS Valente (suscetível) e BRS Pérola (suscetível),
183 cultivares de feijão dos grupos preto e carioca, apresentando porte ereto e ciclo normal, enviadas
184 pela Embrapa Arroz e Feijão (Santos *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2009; Costa *et al.*, 2017). As
185 plantas foram semeadas em vasos de 6 L, em uma mistura de 2:1:1 (solo, substrato e areia) com
186 duas plantas por vaso. Ao longo do experimento foram realizadas duas adubações, a primeira
187 no momento do plantio (NPK 10-10-10 e super simples) e a segunda com 40 dias após o plantio
188 (ureia). O delineamento experimental foi em DBC (delineamento em blocos casualizados), com
189 5 blocos, 15 tratamentos e 5 repetições.

O teste contou com a utilização das duas raças de *C. lindemuthianum*, os isolados LV238 e CL1143, raças 65 e 73, respectivamente, cedidos pelo Laboratório de Resistência de Plantas à Doenças - DBI, aplicados em inóculo misto. Os tratamentos consistiram no uso de três produtos comerciais (Tabela 1.), sendo dois produtos biológicos: bio-imune (*B. velezensis* - BV02) e bombardeiro (*B. subtilis* - CCTB04 + *B. velezensis* - CCTB09 + *B. pumilus* - CCTB05); e um fungicida químico: Fox Xpro (bixafen + protioconazol + trifloxistrobina). Selecionados anteriormente por meio de testes *in vitro*.

2.2.1 Preparo do inóculo, inoculação e tratamentos

Na elaboração do inóculo, foram transferidos discos de 5 mm da cultura pura do fitopatógeno, cultivado em BDA com 10 dias de idade, para vagens de feijão verde autoclavadas, parcialmente imersas em meio ágar-água em tubos de ensaio e incubados de 10 a 15 dias a 22 °C em BOD no escuro. A suspensão de conídios foi obtida por meio da adição de água destilada esterilizada aos tubos de ensaio e raspagem das vagens com alça de platina, sendo em seguida filtrada em gaze estéril para remoção de fragmentos miceliais e ajustada a concentração para $1,2 \times 10^6$ conídios/mL, em de câmara de Neubauer (Damasceno e Silva *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2008; Ishikawa *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2014; Gadaga *et al.*, 2018; Gaveiria-Henández *et al.*, 2020).

As plantas foram tratadas preventivamente com os produtos testados, conforme as recomendações da bula, assim que atingiram o estágio V3. A inoculação com a suspensão de conídios foi realizada sete dias após a primeira aplicação dos produtos, ou seja, no estágio V3+7. Esse procedimento foi feito por aspersão foliar até a máxima capacidade de retenção, aproximadamente de 3 a 4 mL do inóculo/planta (Pinto *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2014). Após a inoculação, as plantas foram mantidas em casa de vegetação, sendo colocadas em câmara

úmida por cerca de 15 horas, utilizando sacos plásticos, visando proporcionar condições favoráveis de penetração do patógeno. O tratamento controle recebeu apenas o inóculo, enquanto as testemunhas permaneceram sem contato, tanto com o inóculo quanto com os produtos. As plantas utilizadas como testemunha, não inoculadas, foram mantidas em uma casa-de-vegetação a parte, separada das demais, com o objetivo de evitar contaminações e certificar a ausência prévia do patógeno nas sementes utilizadas, garantindo que os sintomas observados nas demais plantas tenham sido oriundos exclusivamente da inoculação.

A aplicação dos produtos foi realizada de acordo com as instruções presentes em bula: bio-imune, máximo de 4 aplicações em intervalos de 10 dias; bombardeiro, máximo de 3 aplicações com 7 dias de intervalo; e o Fox Xpro, máximo de 4 aplicações com 14 dias de intervalo. O bio-imune recebeu o adjuvante naft, segundo a indicação da bula para aplicação.

2.2.2 Condições em casa-de-vegetação, avaliações de produtividade e severidade da doença

As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação por aproximadamente 75 dias, com temperatura e umidade monitoradas diariamente. A avaliação de severidade da doença foi realizada a partir do 6º ao 18º dia após inoculação, foram realizadas cinco avaliações com intervalos de três dias, um trifólio por planta foi marcado e avaliado ao longo do tempo, e a AACPD calculada com uma escala de notas proposta por Godoy *et al.* (1996), com pontuações variando de 0,1 a 24,0. Ao final do experimento, as plantas foram colhidas e avaliadas quanto à produtividade, e aferidas as massas seca e fresca de vagens, grãos, raízes e da parte aérea. A produtividade final foi estimada em quilogramas por hectare (kg/ha), considerando-se a produtividade média esperada para cada cultivar: BRS Esplendor - 275.000 kg/ha, BRS Valente - 240.000 kg/ha e BRS Pérola - 215.000 kg/ha.

2.3 Análise dos dados

Para análise dos dados no teste *in vivo*, as cultivares foram avaliadas e comparadas dentro dos seus respectivos tratamentos, uma vez que existem diferenças de suscetibilidade ao patógeno e na produtividade de grãos entre as cultivares utilizadas. Os dados obtidos em ambos os testes, *in vitro* e *in vivo*, foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, por meio do programa estatístico R-Studio.

3 Resultados

3.1 Experimentos *in vitro*, seleção dos produtos comerciais

Nos testes *in vitro*, para a seleção dos produtos com efeito antifúngico, foram observadas diferenças significativas entre os produtos testados e na sensibilidade apresentada pelos isolados LV238 e CL1143, raças 65 e 73 de *C. lindemuthianum*.

3.1.1 metabólitos voláteis

No teste de metabólitos voláteis (Tabela 1), os produtos biológicos diferiram significativamente do tratamento controle para ambas as raças ($p = <0.001$). O produto biológico contendo a mistura de *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) demonstrou melhor desempenho na inibição do crescimento micelial da raça 65, alcançando uma inibição de 43,59%, seguido do tratamento com *B. velezensis* (BV02) com 40,39%. Esses resultados diferiram significativamente do tratamento com bixafen+protioconazol+trifloxistrobina, 21,26%, ou seja, os produtos biológicos obtiveram diferenças significativas em relação ao tratamento químico, com valores de inibição superiores, e ao tratamento controle para a raça

65. Em relação a raça 73, os produtos testados apresentaram desempenho de inibição semelhantes: bixafen + protioconazol + trifloxistrobina obteve 49%, *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) obteve 44% e *B. velezensis* (BV02) obteve 37,48% de inibição do crescimento micelial, diferindo significativamente ($p = <0.001$) do tratamento controle. O tratamento com tiofanato-metílico (R65 – 67,58; R73 – 75,53) não obteve diferença significativa ($p = <0.001$) quando comparado com o valor de média do crescimento micelial do tratamento controle (R65 – 67,58; R73 – 74,77), para ambas as raças.

3.1.2 metabólitos líquidos

No teste com os metabólitos líquidos (Tabela 2), o tratamento com bixafen + protioconazol + trifloxistrobina obteve os maiores valores de inibição com 85,85% para a raça 65 e 90% para a raça 73, diferindo significativamente do tratamento controle para ambas as raças ($p = <0.001$). Os produtos biológicos testados não obtiveram valores de inibição para ambas as raças, quando comparados ao tratamento controle. O tratamento com *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) apresentou valores de média para o crescimento micelial superiores ao tratamento controle (70,69%), para as raças 65 (77,99%) e 73 (84,26%), ou seja, não houve inibição, mas sim um estímulo do crescimento micelial do patógeno. O tratamento à base de *B. velezensis* (BV02) obteve valor de média superior ao tratamento controle (70,69%) para a raça 65 (75,05%), também não obtendo diferença significativa para a raça 73 (68,05%), apesar de estar abaixo do valor do controle (78,49%). O tiofanato-metílico obteve efeito de inibição para a raça 73, com 30,26% de inibição, diferindo significativamente do tratamento controle, porém não diferiu significativamente do tratamento controle para a raça 65 ($p = <0.001$).

3.1.3 Teste de pareamento

O teste de pareamento demonstrou que os tratamentos com *B. velezensis* (BV02), a combinação de *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05), bem como o fungicida composto por bixafen + protioconazol + trifloxistrobina, obtiveram desempenho semelhante no controle da doença. Para a raça 65, os níveis registrados foram de aproximadamente 60% para todos os tratamentos, com destaque para combinação de cepas bacterianas que alcançou 63,11%, enquanto BV02 atingiu 59,65%, e o fungicida químico obteve 60,96% de inibição. Já em relação a raça 73, os três tratamentos também apresentaram eficácia comparável, com o BV02 promovendo uma inibição de 72,34%, a formulação com mistura de *Bacillus* atingindo 76,54% e o fungicida 75,12%. Os produtos biológicos testados obtiveram desempenho de inibição semelhante ou superiores ao tratamento com fungicida químico, diferindo significativamente ($p = <0.001$) em relação ao tratamento controle. Observou-se que o tratamento à base de tiofanato-metílico (R65 – 71,61; R73 – 73,96) diferiu significativamente ($p = <0.001$) quando comparado ao tratamento controle (R65 – 67,95; R73 – 74,85) para ambas as raças, porém com efeito negativo, demonstrando que não houve inibição em relação ao crescimento micelial, mas um aparente estímulo no crescimento em contato indireto com o produto. A raça 73 mostrou maior sensibilidade aos produtos testados, apresentando os menores valores de média, havendo diferença significativa ($p = <0.001$) na sensibilidade demonstrada entre as raças (Tabela 3).

3.1.4 Inibição de germinação

O teste de inibição foi realizado com os três produtos que apresentaram maior eficiência na inibição dos isolados de *C. lindemuthianum*, demonstrada nos primeiros três testes: *B.*

velezensis (BV02), *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) e bixafen + protioconazol + trifloxistrobina.

Os resultados obtidos por meio da leitura em espectrofotômetro a 490 nm, relacionados à atividade mitocondrial (Figura 1 e 2), indicaram que, nas duas primeiras leituras, realizadas às 6 e 8 horas, houve desempenho semelhante entre os tratamentos, sem diferenças significativas entre si para a raça 65 (Figura 1), mas diferindo significativamente para o tratamento controle ($p = <0.001$). Para a raça 73 (Figura 2), o tratamento com *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) obteve o melhor desempenho na redução da atividade mitocondrial em ambas as leituras (6h – 5,68%; 8h – 5,74%), seguido do produto contendo bixafen + protioconazol + trifloxistrobina (6h – 7,34%; 8h – 7,42%), ambos diferindo significativamente ($p = <0.001$) do tratamento controle (6h – 10,30%; 8h – 10,37%). Em ambas as leituras houve diferença significativa entre as raças ($p = <0.001$), sendo que a raça 65 obteve as menores médias para os tratamentos.

Às 10 horas, os tratamentos apresentaram desempenho semelhante para a raça 65, *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) com 5,78%, bixafen + protioconazol + trifloxistrobina com 6,16% e *B. velezensis* (BV02) com 7,08%, todos os produtos testados mantiveram resultados com diferença significativa ($p = <0.001$) quando comparados aos valores de atividade mitocondrial do tratamento controle (10h – 10,02%). Os valores obtidos para a raça 73, após 10 horas, foram bixafen + protioconazol + trifloxistrobina com 5,82%, *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) com 5,95%, e *B. velezensis* (BV02) 8,68%, todos os tratamentos apresentaram diferença significativa ($p = <0.001$) em comparação ao tratamento controle (11,23%).

Após 12 horas, o *B. velezensis* (BV02) com 9,56%, não mais obteve diferença significativa ($p = 0.001$) em comparação com tratamento controle (11,48%) para a raça 73. Os tratamentos *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) e bixafen + protioconazol

+ trifloxistrobina, obtiveram para a raça 73, respectivamente, 6,14% e 4,63%, diferindo significativamente ($p = <0.001$) do tratamento controle com 11,48% de atividade mitocondrial. Na raça 65, os resultados após 12 horas foram: *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) com 6,22%, bixafen + protioconazol + trifloxistrobina com 6,63% e *B. velezensis* (BV02) com 7,46%, todos diferindo significativamente ($p = <0.001$) do valor do tratamento controle (10,22%).

Nas leituras com 24 e 48 horas, o bixafen + protioconazol + trifloxistrobina obteve a menor atividade mitocondrial para a raça 73 (3,84% e 2,24%) e o produto *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) demonstrou maior inibição para a raça 65 após 48 horas com apenas 4,38% de atividade mitocondrial, sendo ambos significativos em relação ao tratamento controle para a raça 65 (24 h – 9,72%; 48 h – 9,80%) e 73 (24 h – 11,04%; 48 h – 11,76%). Novamente, a raça 65 mostrou maior sensibilidade aos tratamentos, diferindo significativamente da raça 73 ($p = <0.001$). Houve interação tratamento versus raças para a atividade mitocondrial após 24 h ($p = 0.001$).

Na leitura a 750 nm, referente ao crescimento micelial (figura 3 e 4), os resultados obtidos nas leituras de 6 e 8 horas, foram que todos os tratamentos diferiram significativamente ($p = <0.001$) do tratamento controle (8,18 e 8,22%) para a raça 65, obtendo desempenhos semelhantes, *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) com 3,64 e 3,84%, bixafen + protioconazol + trifloxistrobina com 3,80 e 4,25% e *B. velezensis* (BV02) com 4,52 e 4,64% (Figura 3). Nas primeiras leituras, às 6 e 8 horas, para a raça 73, o produto à base de *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) obteve melhor desempenho com 3,48 e 3,58%, seguido do bixafen + protioconazol + trifloxistrobina com 4,54 e 4,66% e *B. velezensis* (BV02) com 5,80 e 5,78%, todos diferiram significativamente do tratamento controle (8,18 e 8,0%), com destaque para *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) que difere tanto do tratamento controle, quanto dos demais

tratamentos para a raça 73 (Figura 4). Houve interação entre os fatores tratamento e raça para a variável de atividade mitocondrial após 24 h ($p = 0.001$).

Às 10 e 12 horas, os tratamentos permaneceram com desempenho semelhantes para a raça 65, diferindo significativamente ($p = <0.001$) do tratamento controle (8,36 e 8,48%), *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) com 4,08 e 4,30%, bixafen + protioconazol + trifloxistrobina com 4,22 e 5,40% e *B. velezensis* (BV02) com 4,90 e 5,06%. Os resultados obtidos para a raça 73, após 10 horas, foram os tratamentos *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) com 3,82 e 3,88%, e bixafen + protioconazol + trifloxistrobina com 3,60% para ambas as leituras, diferindo significativamente ($p = <0.001$) do tratamento controle, mas não entre si, obtendo resultados semelhantes de desempenho, seguidos do tratamento com *B. velezensis* (BV02) com 5,92 e 6,34% que também diferiu do tratamento controle. Houve interação entre os fatores tratamento e raça para a variável de atividade mitocondrial após 12 h ($p = 0.0285$).

Nas leituras após 24 e 48 horas o bixafen + protioconazol + trifloxistrobina obteve melhor desempenho na redução do crescimento micelial com 2,98 e 3,16% para a raça 65, seguido dos tratamentos com *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) com 4,22 e 4,78%, e *B. velezensis* (BV02) com 4,40 e 4,76%, todos os tratamentos diferiram significativamente ($p = <0.001$) em relação ao tratamento controle (8,10 e 8,24%). A raça 73 obteve resultados semelhantes, após 24 e 48 horas o bixafen + protioconazol + trifloxistrobina obteve melhor desempenho na redução do crescimento micelial com 2,26 e 1,62%, seguido dos produtos biológicos *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) com 4,44 e 5,12%, e *B. velezensis* (BV02) com 6,42 e 7,32%, todos os tratamentos diferiram significativamente ($p = <0.001$) em relação ao tratamento controle (8,78 e 9,42%). Houve interação tratamento versus raças para a atividade mitocondrial em ambas as leituras ($p = <0.001$).

382

383 3.2 *Teste in vivo: resultados em condições de casa-de-vegetação*

384 O experimento 1, foi mantido em casa-de-vegetação com temperaturas médias que variaram
385 entre 19 e 32 °C e umidade média de até 82%. O experimento 2, foi mantido em casa-de-
386 vegetação sob temperaturas que variaram entre 19 e 24 °C, com umidade média de até 89%.

387

388 3.2.1 *AACPD, experimentos 1 e 2*

389 Na avaliação da severidade, o experimento 1 (Tabela 4) obteve menores valores da AACPD
390 para as cultivares BRS Pérola (0,0108) e BRS Valente (1,3605), tratadas com bixafen +
391 protioconazol + trifloxistrobina, diferindo significativamente do tratamento controle ($p =$
392 <0.001). Os produtos biológicos não diferiram significativamente do tratamento controle para
393 a cultivar Pérola, apesar de possuírem valores abaixo do tratamento controle. Houve redução
394 na severidade da doença em todos os tratamentos para a cultivar Valente, com destaque para o
395 produto à base de bixafen + protioconazol + trifloxistrobina (1,3605), seguido dos tratamentos
396 com *B. velezensis* (BV02) (30,89) e *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B.*
397 *pumilus* (CCTB05) (31,73), todos os tratamentos diferiram significativamente do tratamento
398 controle ($p = <0.001$). A cultivar BRS Esplendor não apresentou o desenvolvimento de
399 sintomas, confirmando a resistência aos isolados. No experimento 2 (Tabela 5), não foi
400 observada diferença significativa entre os valores da AACPD para a cultivar BRS Valente, em
401 comparação ao tratamento controle, e a cultivar BRS Esplendor não apresentou o
402 desenvolvimento de sintomas, como já esperado. Por outro lado, a cultivar Pérola obteve
403 maiores valores da AACPD para as plantas tratadas com os produtos biológicos, *B. velezensis*
404 (BV02) e *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05), em
405 comparação com as plantas controle, enquanto as plantas tratadas com bixafen + protioconazol

+ trifloxistrobina obtiveram menores valores (4,5300), porém não diferindo significativamente do tratamento controle (6,0826).

3.2.2 Produtividade

No experimento 1, a partir dos dados de produtividade avaliados, foi possível obter os seguintes resultados: o tratamento com bixafen + protioconazol + trifloxistrobina obteve maior massa fresca de parte aérea (Tabela 6) para a cultivar BRS Valente (0,164 kg/planta), diferindo significativamente ($p = 0.0344$) do tratamento controle (0,89 kg/planta), os demais tratamentos não demonstraram diferenças significativas com relação ao controle; os resultados obtidos com relação à massa seca de parte aérea (Tabela 6), não demonstraram efeito significativo entre os tratamentos ($p = 0.2275$); para a massa fresca de raiz (Tabela 7), as cultivares Pérola e Valente não obtiveram valores expressivos, porém a BRS Esplendor obteve maior massa fresca de raiz (0,0129 kg/planta) para o tratamento com *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05), diferindo significativamente das plantas controle (0,0088 kg/planta); a massa seca de raiz (Tabela 7) não obteve diferença significativa entre os tratamentos avaliados ($p = 0.1373$); para a massa fresca de vagens (Tabela 9), apenas a BRS Valente obteve resultado acima do tratamento controle, o tratamento à base de bixafen + protioconazol + trifloxistrobina (0,1452 kg/planta), diferindo significativamente do tratamento controle; na massa fresca e seca de grãos (Tabela 8), e no número de vagens/planta e grãos/vagem (Tabela 10), os tratamentos não obtiveram diferença significativa em relação ao controle; por fim, a produtividade em kg/ha (Tabela 11), também não apresentou diferença significativa em relação ao tratamento controle para todas as cultivares ($p = 0.2187$).

No experimento 2, os resultados obtidos foram semelhantes ao experimento 1, os valores de produtividade não diferiram significativamente entre os tratamentos, em todas as cultivares testadas (Tabelas 12, 13, 14, 15, 16 e 17).

4 Discussão

O controle de doenças de plantas, especialmente as que afetam a parte aérea, representa um desafio contínuo para a agricultura moderna. A ocorrência de resistência aos fungicidas, a diminuição no registro de novas moléculas e a proibição de algumas já existentes, somado ao desafio no desenvolvimento de novas cultivares resistentes, torna urgente a busca por estratégias de controle alternativas mais eficientes que possam ser inseridas em programas de manejo integrado de doenças (Sartorato, 2006; Deising *et al.*, 2008; Pinto *et al.*, 2012; Gontijo Neto, 2016; Muniz *et al.*, 2023). Estudos realizados por Ons *et al.* (2020) e Sviech *et al.* (2024), demonstraram que a combinação de agentes de controle biológico e fungicidas, em alguns casos, acarreta na redução da dose dos fungicidas sintéticos, essa estratégia visa reunir diferentes mecanismos de ação provocando a redução da pressão de seleção sobre o patógeno, diminuindo as chances do desenvolvimento de resistência.

Nos experimentos *in vitro*, os produtos biológicos testados demonstraram exercer algum tipo de antagonismo sobre as raças de *C. lindemuthianum*, um efeito muito comum para as bactérias do gênero *Bacillus* conforme Alabouvette *et al.* (2006). Os biológicos à base de *B. velezensis* (BV02) e *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05), demonstraram efeitos semelhantes ou até mesmo superiores aos fungicidas químicos testados. No teste de metabólitos voláteis, *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) obteve inibição superior ao ingrediente ativo bixafen + protioconazol + trifloxistrobina para a raça 65 e desempenho semelhante para a raça 73. Os resultados do teste

de pareamento também apontaram resultados de desempenho semelhantes entre o ingrediente ativo bixafen + protioconazol + trifloxistrobina e os biológicos testados para ambas as raças. Esses resultados estão de acordo com as afirmações relatadas por Fira *et al.* (2018), cepas de *Bacillus* apresentam a capacidade de biocontrole predominantemente por meio da atividade inibitória do crescimento de fitopatógenos, seja por meio da antibiose direta ou indireta, por meio da produção de compostos orgânicos voláteis - COVs (Alabouvette *et al.*, 2006). Entre os produtos testados, o fungicida à base de tiofanato-metílico não demonstrou efeito de inibição nos testes de metabólitos voláteis e pareamento, demonstrando uma baixa capacidade de inibição apenas em contato direto no teste de metabólitos líquidos, resultados semelhantes foram relatados por Sartorato (2006), em que foi possível observar baixa sensibilidade de isolados de *C. lindemuthianum* ao ingrediente ativo, indicando a ocorrência de resistência ao fungicida. Os resultados também confirmam o que foi encontrado por Pinto *et al.* (2012), em que os resultados mostraram que cerca de 9,5% dos isolados estudados foram resistentes ao ingrediente ativo tiofanato-metílico. O tiofanato-metílico foi eficiente apenas na inibição para a raça 73 no teste de metabólitos líquidos, ou seja, demonstrando possuir efeito fungistático apenas por contato direto, e para uma das raças. Os produtos biológicos não obtiveram efeito de inibição por metabólitos líquidos, provavelmente em razão da ausência de células bacterianas, o que interferiu na eficiência de inibição do produto. Esse resultado está em concordância com Köhl *et al.* (2019), que relataram que muitos compostos e metabólitos secundários podem exercer efeito antimicrobiano apenas em altas concentrações, sendo, contudo, produzidos em baixos níveis de concentração apenas durante a interação dos agentes de biocontrole com a planta ou com outros microrganismos antagonistas. Em geral, os metabólitos produzidos apresentam vida útil curta e baixa capacidade de dispersão no meio de cultura, resultando em pouca ou nenhuma eficiência na inibição de fitopatógenos. No teste de metabólitos líquidos, o tratamento composto por *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis*

(CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) apresentou médias de crescimento micelial superiores às do tratamento controle, indicando não apenas a ausência de inibição, mas também um estímulo ao crescimento micelial do patógeno. Esse efeito pode ser atribuído, além da ausência de células bacterianas viáveis e da baixa concentração de metabólitos dispersos no meio, à formulação utilizada para manter o ingrediente ativo estável, a qual pode atuar como fator de estímulo ao crescimento do patógeno. Esse resultado coloca em destaque a importância de discussões relacionadas a formulação de produtos biológicos, e as interações que esses adjuvantes possuem, não apenas com o ingrediente ativo, mas também com o meio. Nos testes *in vitro*, a raça 73 mostrou maior sensibilidade aos produtos testados, em comparação com a raça 65, provavelmente isso se deve a diferença nos genes de virulência de ambas as raças.

Após os primeiros testes, os produtos com maior eficiência quanto ao efeito fungicida foram avaliados quanto a sua capacidade em inibir a germinação das raças 65 e 73 de *C. lindemuthianum*. Os resultados obtidos demonstraram que o produto *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) apresentou eficiência semelhantes ao fungicida com bixafen + prothioconazol + trifloxistrobina na redução da atividade mitocondrial do patógeno. O produto à base de *B. velezensis* (BV02) também demonstrou bom desempenho para a inibição, principalmente da raça 73. A raça 65 demonstrou maior sensibilidade ao produto composto por *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05). Na avaliação de crescimento micelial, todos os produtos obtiveram bom desempenho em todos os tempos amostrados. Novamente, o *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05) obteve valores de inibição semelhantes ou próximos ao fungicida para ambas as raças, seguido do *B. velezensis* (BV02) que demonstrou maior efeito sobre a raça 65. Os produtos à base de cepas de *Bacillus* possuem a capacidade de inibir a germinação de fungos, de acordo com resultados obtidos por Muniz *et al.* (2023), ao estudar a associação de *Bacillus subtilis* (BV02) no controle da ferrugem asiática da soja, observando uma possível ação direta

sobre urediniósporos, atrasando ou inibindo a germinação. Após os testes *in vitro*, os três produtos avaliados foram conduzidos para experimento em casa-de-vegetação.

Na avaliação da AACPD, para o experimento 1 em casa-de-vegetação o fungicida se sobressaiu, reduzindo a severidade da doença nas cultivares BRS Pérola e BRS Valente, confirmando a eficiência dos ingredientes ativos prothioconazol e trifloxistrobina sobre o crescimento desse fitopatógeno também relatado por Sartorato (2006) e Sviech *et al.* (2024). Demonstrando que o agente causal da antracnose, *C. lindemuthianum*, ainda não foi capaz de desenvolver resistência a esses ingredientes. A cultivar BRS Esplendor não apresentou sintomas, como já esperado, visto se tratar de uma cultivar resistente (Costa *et al.*, 2017). Os produtos biológicos apresentaram redução da doença, porém não obtiveram um bom desempenho quando comparados ao controle para a cultivar Pérola, mas apresentaram redução significativa da doença para a cultivar Valente, confirmando resultados obtidos por Sviech *et al.* (2024), em que foi demonstrada a redução da incidência de antracnose em folhas de feijão, por meio da adição de *Trichoderma* sp. e *B. subtilis* às aplicações. No experimento 2, na avaliação da AACPD, a cultivar Pérola obteve valores discrepantes com relação ao progresso da doença, para os tratamentos com *B. velezensis* (BV02) e *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05). Durante o período de incubação das plantas em casa-de-vegetação, a cultivar Pérola apresentou retardo no desenvolvimento, provavelmente devido a temperatura, esse atraso no crescimento acarretou no atraso da aplicação dos tratamentos e inóculo, em relação às outras duas cultivares utilizadas. O alto valor da AACPD pode estar relacionado, ao contato do fitopatógeno na ausência do tratamento preventivo com os produtos, ou na baixa capacidade de proteção sistêmica dos produtos biológicos utilizados. Foi possível observar diferenças no padrão de surgimento dos sintomas para a cultivar Pérola, onde os sintomas estavam mais presentes nos brotos mais jovens, que não haviam recebido a cobertura do

produto, havendo a ausência de sintomas em partes da planta que haviam recebido a aplicação do produto.

Nas avaliações de produtividade do experimento 1, a cultivar Valente apresentou maior massa fresca de parte aérea e maior massa fresca de vagens para o tratamento com bixafen + protioconazol + trifloxistrobina, indicando menor perda de massa foliar e menor dano na formação de vagens, em comparação ao tratamento controle. Os produtos biológicos obtiveram maior massa fresca de raiz para a cultivar Esplendor com o tratamento à base de *B. subtilis* (CCTB04) + *B. velezensis* (CCTB09) + *B. pumilus* (CCTB05). Os dados obtidos vão ao encontro de outros resultados já conhecidos, que relatam o potencial de promoção de crescimento, como citado por Araújo e Menezes (2009), que obteve resultados que demonstraram o potencial de *Bacillus subtilis* para uso comercial como rizobactéria promotora de crescimento de plantas. No experimento 2 não foi possível observar um desempenho significativo, tanto para o fungicida quanto para os produtos biológicos.

Nas avaliações de produtividade e severidade, em ambos os experimentos, os desempenhos obtidos para os tratamentos biológicos e químicos, não melhoraram o desempenho da forma esperada. Estes resultados podem estar relacionados a uma série de fatores como, baixa eficiência na aplicação, seja devido ao método ou dose insuficiente, entre fatores bióticos e abióticos. O potencial de espécies do gênero *Bacillus* no biocontrole de fitopatógenos em diversas culturas já é comprovada por inúmeros estudos, realizados em laboratório e campo, e atualmente um grande número de isolados selecionados já é comercializado com sucesso. Além disso, segundo Raymaekers *et al.* (2020), os produtos de biocontrole devem ser empregados como uma medida para complementar os agroquímicos no manejo integrado de doenças. Isso exigirá mais pesquisas relacionadas à aplicação desses agentes de biocontrole, tanto de forma isolada quanto em consórcio com outros produtos. Resultados obtidos por Sviech *et al.* (2024), demonstraram que em condições de campo, agroquímicos à base tebuconazol, protioconazol e

trifloxistrobina tiveram seu efeito potencializado com a adição dos agentes de controle biológico *Trichoderma* sp. e *B. subtilis*, no manejo da antracnose no feijoeiro. As cepas de *Bacillus* não apresentaram incompatibilidade com esses princípios ativos, indicados no manejo da antracnose em feijão. Porém, segundo Anckaet *et al.* (2022), assim como acontece com outros microrganismos utilizados, os produtos à base de *Bacillus* tem seu potencial comprometido devido ao desempenho inconsistente em condições distintas, o que exige ajustes nas formulações para produção em larga escala. Portanto, é indispensável aprofundar o entendimento sobre os processos que ativam suas características de biocontrole e garantem a manutenção dessas características em condições de campo. Fira *et al.* (2018) afirma que o uso de agentes de biocontrole não será apenas uma alternativa, mas se tornará em um futuro próximo nossa maior demanda.

5 Conclusão

As cepas BV02 (bio-imune) e CCTB0+CCTB09+CCTB05 (bombardeiro), demonstraram efeito de inibição *in vitro* para os isolados LV238 e CL1143, das raças 65 e 73 de *C. lindemuthianum*. Os produtos inibiram o crescimento micelial por meio do antagonismo direto e da produção de compostos voláteis, sendo também capazes de retardar a germinação em contato indireto. Em casa-de-vegetação, as doses indicadas em bula para os produtos testados, não demonstraram potencial de inibição satisfatório para os isolados das raças 65 e 73, o que pode estar relacionado diretamente com a baixa concentração dos produtos, ou problemas de cobertura na aplicação. Dessa forma, são necessários mais estudos relacionados aos efeitos dessas cepas sobre o estabelecimento dos isolados LV238 e CL1143 em condições *in vivo*.

573 **REFERÊNCIAS**

- 574 Alabouvette, C.; Olivain, C.; Steinberg, C., 2006. Biological control of plant diseases: the
575 European situation. *European Journal of Plant Pathology*, 114, 329-341.
- 576 Anckaet, A.; Arias, A. A.; Hoff, G. Calonne-Salmon, M.; Declerck, S.; Ongena, M., 2022.
577 The use of *Bacillus spp.* as bacterial biocontrol agents to control plant diseases. *In*: Köhl, J.
578 Ravensberg, W. Microbial bioprotectans for plant disease management. Burleigh Dodds
579 Science Publishing, Cambridge, Reino Unido, 1-54.
- 580 Araújo, F. F.; Menezes, D., 2009. Indução de resistência a doenças foliares em tomateiro por
581 indutores biótico (*Bacillus subtilis*) e abiótico (Acibenzolar-S-Metil). *Summa Phytopathol.*,
582 Botucatu, v. 35, n. 3, p. 169-172.
- 583 Bianchini, A., Maringoni, A. C., Carneiro, S. M. T. P. G., 1997. Doenças do feijoeiro. *In*:
584 Kimati, H.; Amorim, L.; Filho, A. B.; Camargo, L. E. A.; Rezende, J. A. M. Manual de
585 Fitopatologia. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 1995 – 1997. 2, 353-376.
- 586 Brent, K. J., Hollomon, D. W., 2007. Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be
587 managed. 2. ed. FRAC, Belgium, 57.
- 588 Castaño-Zapata, J., 1989. Estandarización de la estimación de daños causados por hongos,
589 bacterias y nematodos en fríjol (*Phaseolus vulgaris L.*). *Fitopatologia Colombiana*, 13, 9-19.
- 590 Carbonell, S. A. M., Chiorato, A. F., Bezerra, L. M. C., 2021. A planta e o grão de feijão e as
591 formas de apresentação aos consumidores. *In*: Ferreira, C. M., Barrigossi, J. A. Arroz e feijão:
592 tradição alimentar e segurança alimentar. Embrapa, Brasília – DF, 1 ed., 101-116.
- 593 Ciofini, A.; Negrini, F.; Baroncelli, R.; Beraldi, E., 2022. Management of post-harvest
594 anthracnose: current approaches and future perspectives. *Plants*, 11, 1856.

- 595 Costa, J. G. C. *et al.*, 2009. BRS Esplendor: cultivar de feijoeiro comum de grão tipo
596 comercial preto, com arquitetura de planta ereta, alto potencial produtivo e tolerância a
597 doenças. EMBRAPA, Santo Antônio de Goiás – GO, 2009. ISSN 1678-961X.
- 598 Costa, L. C.; Nalin, R. S.; Ramalho, M. A.; Souza, E. A., 2017. Are duplicated genes
599 responsible for anthracnose resistance in common bean?. Plos One, 12, 3.
- 600 Damasceno e Silva, K. J., Souza, E. A., Ishikawa, F. H., 2007. Characterization of
601 *Colletotrichum lindemuthianum* Isolates from the State of Minas Gerais, Brazil. Journal of
602 Phytopathology, 155, 241-247.
- 603 Dean, R., Kan, J. A. L. V., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Pietro, A. D., Spanu, P.
604 D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., Foster, G. D., 2012. The top 10 fungal
605 pathogens in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology, 13, 4, 414-430.
- 606 Deising, H. B.; Reiman, S.; Pascholati, S. F., 2008. Mechanisms and significance of fungicide
607 resistance. Brazilian Journal of Microbiology, 39, 286-295. ISSN 1517-8382.
- 608 Duhatschek, E., Santos, L. A., Faria, C. M. D. R., 2018. Sensibilidade de isolados de
609 *Phakopsora pachyrhizi* provenientes da região do centro oeste do Paraná a fungicidas. Summa
610 Phytopathol., Botucatu, 44, 193-194.
- 611 Fira, D.; Dimkic, I.; Beric, T.; Lozo, J.; Stankovic, S., 2018. Biological control of plant
612 pathogens by *Bacillus* species. Journal of biotechnology, Amsterdam, 10, 1, 44-55.
- 613 Gadaga, S. J. C., Siqueira, C. S., Machado, J. C., 2018. Molecular detection of *Colletotrichum*
614 *lindemuthianum* in bean seed samples. Journal of Seed Science, 40, 370-377.
- 615 Gaviria-Hernández, V., Zabet, G., Pinel-Alvarez, M. F., Alves, M., Antunes, I. F., Farias, C.
616 R. J., 2020. Variabilidade patogênica de populações multiespóricas e monospóricas de *C.*

- 617 *lindemuthianum* em plântulas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*). Braz. J. of Develop.,
 618 Curitiba, 6, 88300-88315.
- 619 Godoy, C. V., Carneiro, S. M. T. P. G., Iamauti, M. T., Pria, M. D., Amorim, L., Berger, R.
 620 D., Bergamin Filho, A., 1996. Diagrammatic scales for bean diseases: development and
 621 validation. Journal of Plant Diseases and Protection, 104, 336-345.
- 622 Gontijo neto, G. F.; Andrade, M. J. B.; Pozza, E. A.; Martins, F. A. D.; Soares, B. L.; Belan,
 623 L. L.; Cardilho, B. E. S., 2016. Controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro
 624 comum com indutores de resistência. Nucleus, 13, 2.
- 625 González-Pérez, E., Jiménez-Bremont, J., 2024. *Cladosporium psychrotolerans* strain T01
 626 enhances plant biomass and also exhibits antifungal activity against pathogens. Brazilian
 627 Journal of Microbiology, 55, 2855-2867.
- 628 Ishikawa, F. H., Barcelos, Q. L, Alves, E., Camargo Jr, O. A., Souza, E. A., 2009. Symptoms
 629 and Prepenetration Events Associated with the Infection of Common Bean by the Anamorph
 630 and Teleomorph of *Glomerella cingulate f.sp. phaseoli*. J. Phytopathol, 158, 270-277.
- 631 Köhl, J.; Kolnaar, R.; Ravensberg, W. J., 2019. Mode of action of microbial biological control
 632 agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. Frontiers in Plant Science, 10.
- 633 Maphosa, Y., Jideani, V. A., 2017. The Role of Legumes in Human Nutrition. In: Functional
 634 Food-Improve Health through Adequate Food, <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.69127>.
- 635 Oliveira, B. G., Carneiro, S. M. T. P. G., Romano, E. D. B., 2014. Caracterização de raças de
 636 *Colletotrichum lindemuthianum* no estado do Paraná. Iniciação científica CESUMAR, 16,
 637 205-211. ISSN 1518-1243.

- 638 Ons, L.; Bylemans, D.; Thevissen, K.; Cammue, B. P. A., 2020. Combining Biocontrol
639 Agents with Chemical Fungicides for Integrated Plant Fungal Disease Control.
640 *Microorganisms*, 8, 12, 1930.
- 641 Muniz, C. R.; Paniago, H. L.; Braz, G. B. P.; Campos, H. D.; Freire, E. S., 2023. Associação
642 de *Bacillus subtilis* BV02 e produto à base de cobre no controle da ferrugem asiática na soja.
643 *Summa Phytopathologica*, 49, 1-9.
- 644 Paula Júnior, T. J., Zambolim, L., 2006. Doenças. In: Vieira, C., Paula Júnior, T. J., Borém,
645 A. Feijão. Viçosa: UFV, 2, 359-414.
- 646 Paula Júnior, T. J. *et al.*, 2015. Doenças do feijoeiro: estratégias integradas de manejo. In:
647 Carneiro, J. E.; Paula Júnior, T. J., Borém, A. (Eds.). Feijão: do plantio à colheita. Viçosa:
648 UFV, 2015, 384.
- 649 Perrony, P. E. P., Guimarães, R. A., Reis, L. O., Gomes, L. B., Silva, L. J., Correa, C. M. A.,
650 Silva, J. C. P., Medeiros, F. H. V., 2023. Selectivity of chemical na biological foliar
651 treatments on the phylloplane communities of bacteria and fungi antagonistic to *Fusarium*
652 *verticillioides* in maize. *Journal of Phytopathology*, 171, 656-672.
- 653 Pinto, J. M. A., Souza, E. A., Oliveira, D. F., 2010. Use of plant extracts in the control of
654 common bean anthracnose. *Crop Protection*, xxx, 1-5.
- 655 Pinto, J. M. A.; Pereira, R.; Mota, S. F.; Ishikawa, F. H.; Souza, E. A., 2012. Investigating
656 phenotypic variability in *Colletotrichum lindemuthianum* populations. *Phytopathology*, 102,
657 5, 490–497.
- 658 Raymaekers, K.; Ponet, L.; Holtappels, D.; Berckmans, B.; Cammue, B. P. A., 2020.
659 Screening for novel biocontrol agents applicable in plant disease management - A review.
660 *Biological Control*, 144, 1–18.

- 661 Ribeiro, T.; Esteves, J. A. F.; Silva, D. A.; Gonçalves, J. G. R.; Carbonell, S. A. M.; Chiorato,
662 A. F., 2016. Classification of *Colletotrichum lindemuthianum* races in differential cultivars of
663 common bean. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 38, n. 2, p.179-184.
- 664 Santos, J., Antunes, I. F.; Rey, M. S., Rossetto, E. A., 2008. Virulência das raças 65, 73 e 81
665 de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. e determinação de fontes de
666 resistência em *Phaseolus vulgaris* L. R. Bras. Agrociência. Pelotas, 14, 115-124.
- 667 Sartorato, A., 2006. Sensibilidade “*in vitro*” de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a
668 fungicidas. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 36, 211-213.
- 669 Souza, B. O.; Souza, E. A.; Mendes-Costa, M. C., 2007. Determinação da variabilidade em
670 isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* por meio de marcadores morfológicos e culturais.
671 *Ciênc. agrotec.*, Lavras-MG, v. 31, n. 4, p. 1000-1006.
- 672 Siqueira, I. T. D., Cruz, L. R., Souza-Motta, C. M., Medeiros, K. A., 2019. Induction of
673 acibenzolar-S-methyl resistance in cowpea to control anthracnose. *Summa Phytopathologica*,
674 45, 1, 76-82.
- 675 Sviech, L., Faria, C. M. D. R., Santos, L. A.; Sviech, K. D., 2024. Manejo da antracnose do
676 feijão: interação entre produtos biológicos e químicos. *Contribuciones a las Ciencias Sociales*,
677 São José dos Pinhais, 17, 13, 01-xx.
- 678 You, J., Guoqing, L., Chaohan, L., Lihua, Z., Hongjuan, Y., Ronghao, S.; Weihong, G.,
679 2022. Biological control and plant growth promotion by volatile organic compounds of
680 *Thichoderma koningiopsis* T-51. *Journal of Fungi*, 8, 131.

Legendas para figuras e tabelas:

Figura 1: Inibição da atividade mitocondrial da raça 65 de *C. lindemuthianum*, por produtos comerciais ao longo de 6 tempos (6, 8, 10, 12, 24 e 48 h): bio-imune (*B. velezensis* - BV02), bombardeiro (*B. subtilis* - CCTB04 + *B. velezensis* - CCTB09 + *B. pumilus* - CCTB05) e Fox Xpro (bixafen + protioconazol + trifloxistrobina). Leitura em espectrofotômetro a 490 nm.

Figura 2: Inibição da atividade mitocondrial da raça 73 de *C. lindemuthianum*, por produtos comerciais ao longo de 6 tempos (6, 8, 10, 12, 24 e 48 h): bio-imune (*B. velezensis* - BV02), bombardeiro (*B. subtilis* - CCTB04 + *B. velezensis* - CCTB09 + *B. pumilus* - CCTB05) e Fox Xpro (bixafen + protioconazol + trifloxistrobina). Leitura em espectrofotômetro a 490 nm.

Figura 3: Inibição de germinação da raça 65 de *C. lindemuthianum*, por produtos comerciais ao longo de 6 tempos (6, 8, 10, 12, 24 e 48 h): bio-imune (*B. velezensis* - BV02), bombardeiro (*B. subtilis* - CCTB04 + *B. velezensis* - CCTB09 + *B. pumilus* - CCTB05) e Fox Xpro (bixafen + protioconazol + trifloxistrobina). Leitura em espectrofotômetro a 750 nm.

Figura 4: Inibição de germinação da raça 73 de *C. lindemuthianum*, por produtos comerciais ao longo de 6 tempos (6, 8, 10, 12, 24 e 48 h): bio-imune (*B. velezensis* - BV02), bombardeiro (*B. subtilis* - CCTB04 + *B. velezensis* - CCTB09 + *B. pumilus* - CCTB05) e Fox Xpro (bixafen + protioconazol + trifloxistrobina). Leitura em espectrofotômetro a 750 nm.

Tabela 1: Experimentos *in vitro*, seleção de produtos comerciais: efeito de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum*, raças 65 e 73, por metabólitos voláteis produzidos pelas espécies de *Bacillus* e agroquímicos.

Tabela 2: Experimentos *in vitro*, seleção de produtos comerciais: efeito de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum*, raças 65 e 73, por metabólitos líquidos produzidos pelas espécies de *Bacillus* e agroquímicos.

Tabela 3: Experimentos *in vitro*, seleção de produtos comerciais: efeito de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum*, raças 65 e 73, por efeito antagonista de espécies de *Bacillus* e agroquímicos em pareamento.

Tabela 4: Avaliação da severidade do experimento 1: AACPD – Área abaixo da curva de progresso da doença.

Tabela 5: Avaliação da severidade do experimento 2: AACPD – Área abaixo da curva de progresso da doença.

Tabela 6: Avaliação de produtividade experimento 1: Massa fresca e seca parte aérea.

Tabela 7: Avaliação de produtividade experimento 1: Massa fresca e seca raiz.

Tabela 8: Avaliação de produtividade experimento 1: Massa fresca e seca grãos.

Tabela 9: Avaliação de produtividade experimento 1: Massa fresca vagens.

Tabela 10: Avaliação de produtividade experimento 1: número de vagens/planta, número de grãos/vagem.

Tabela 11: Avaliação de produtividade experimento 1: produtividade em kg/ha.

Tabela 12: Avaliação de produtividade experimento 2: Massa fresca e seca parte aérea.

Tabela 13: Avaliação de produtividade experimento 2: Massa fresca e seca raiz.

Tabela 14: Avaliação de produtividade experimento 2: Massa fresca vagens.

Tabela 15: Avaliação de produtividade experimento 2: Massa fresca e seca grãos.

Tabela 16: Avaliação de produtividade experimento 2: número de vagens/planta, número de grãos/vagem.

Tabela 17: Avaliação de produtividade experimento 2: produtividade em kg/ha.

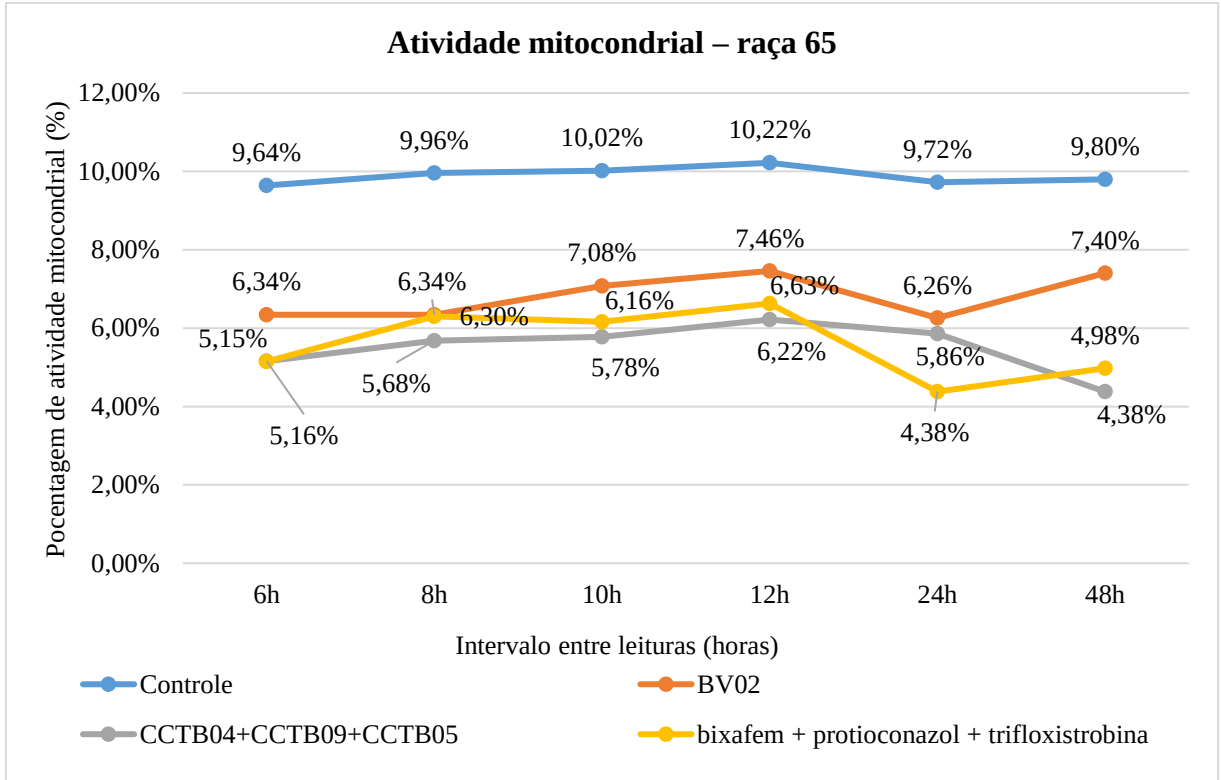


Figura1

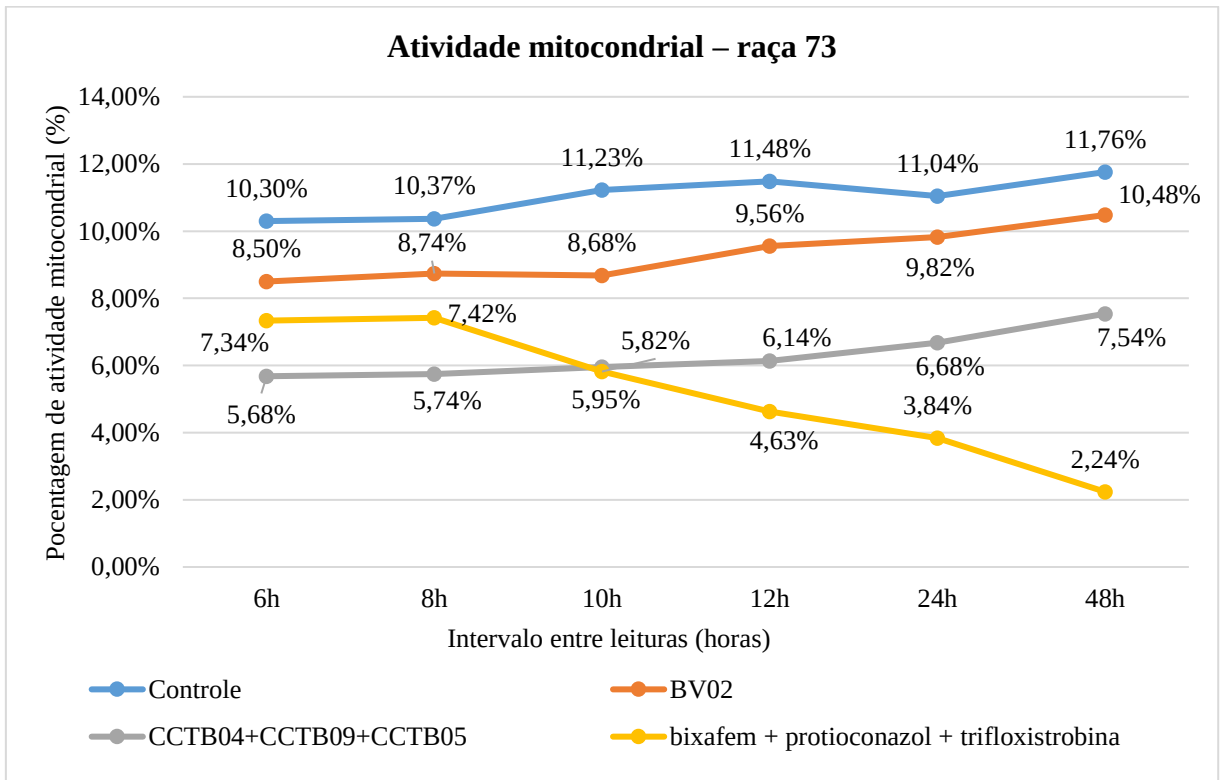


Figura 2

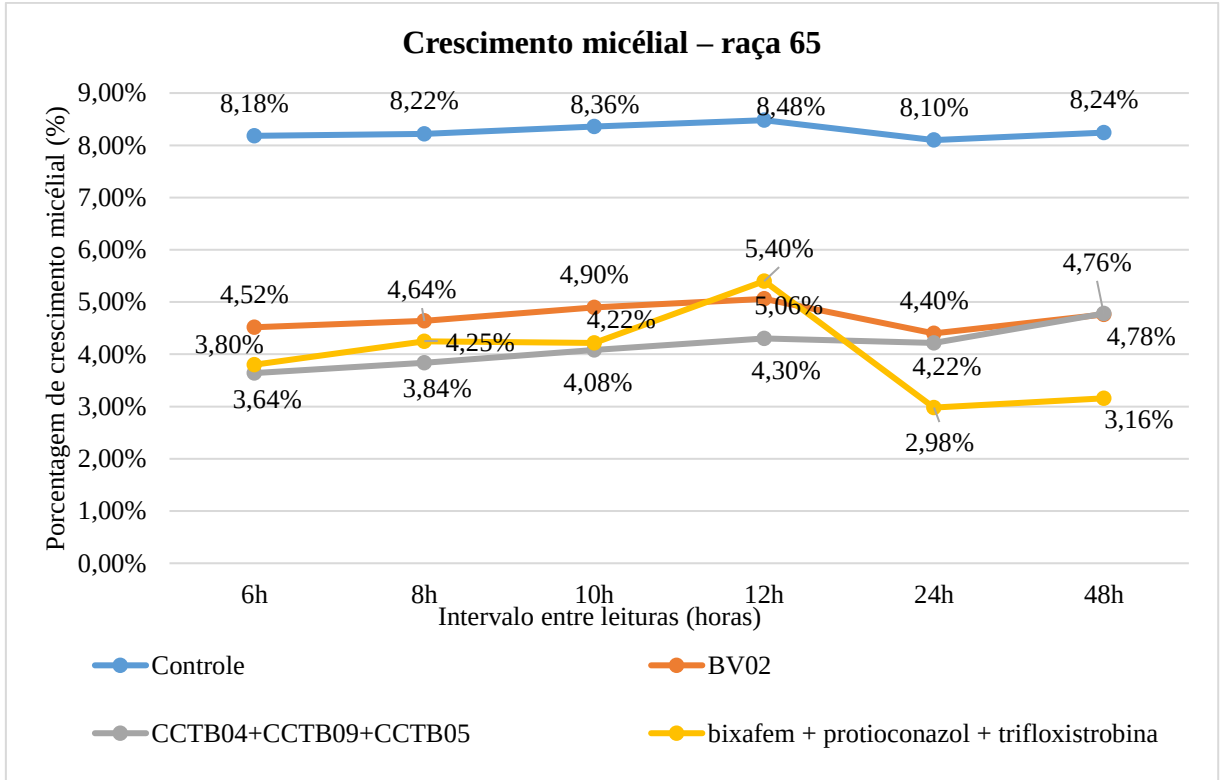


Figura 3

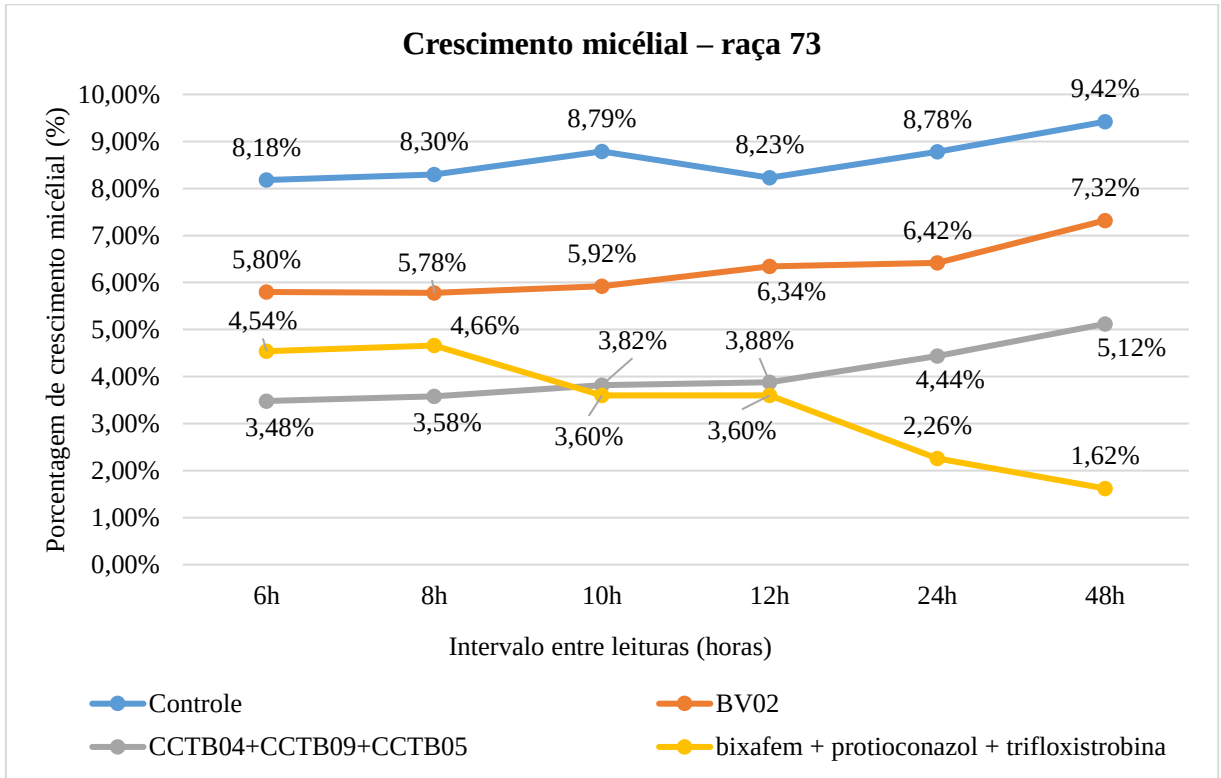


Figura 4

metabólitos voláteis: média do crescimento micelial		
Tratamento	Raça 65	Raça 73
Controle	67.58 cdA	74.77 bA
BV02	40.28 abA	46.74 aA
CCTB04+CCTB09+CCTB05	38.12 aA	41.85 aA
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	53.21 bcB	38.12 aA
tiofanato-metílico	67.58 dA	75.53 bA
p-valor	0.0069	
Cv. (%)	14.04	

Tabela 1

Teste metabólitos líquidos: média do crescimento micelial		
Tratamento	Raça 65	Raça 73
Controle	70.69 bcA	78.49 dB
BV02	75.05 cdB	68.05 cA
CCTB04+CCTB09+CCTB05	77.99 dA	84.26 eB
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	10.00 aA	7.84 aA
tiofanato-metílico	68.39 bB	54.74 bA
p-valor	<0.001	
Cv. (%)	4.87	

Tabela 2

Pareamento: média do crescimento micelial		
Tratamento	Raça 65	Raça 73
Controle	67.95 bA	74.85 bB
BV02	27.42 aB	20.70 aA
CCTB04+CCTB09+CCTB05	25.07 aB	17.56 aA
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	26.53 aB	18.62 aA
tiofanato-metílico	71.61 bA	73.96 bA
p-valor	<0.001	
Cv. (%)	5.02	

Tabela 3

AACPD – Experimento 01			
Tratamento	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	7.4700 b	38.0125 c	0.001 a
BV02	3.7000 ab	30.8950 b	0.001 a
CCTB04+CCTB09+CCT B05	4.6400 ab	31.7300 b	0.001 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	0.0108 a	1.3605 a	0.001 a
p-valor	<0.001		
Cv. (%)	35.76		

Tabela 4

AACPD – Experimento 02			
Tratamento	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	6.0826 a	5.9712 a	0.001 a
BV02	40.1150 c	3.4202 a	0.001 a
CCTB04+CCTB09+CC TB05	14.2050 b	1.8202 a	0.001 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	4.5300 a	4.4902 a	0.001 a
p-valor	<0.001		
Cv. (%)	54.71		

Tabela 5

01- Massa fresca p. aérea (kg/planta)			01- Massa seca p. aérea (kg/planta)			
Tratamentos	Pérola	Valente	Esplendor	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	0.173 a	0.89 b	0.193 a	0.044 a	0.026 a	0.048 a
BV02	0173 a	0.137 ab	0.172 a	0.045 a	0.038 a	0.041 a
CCTB04+CCTB09+CCTB05	0.163 a	0.084 b	0.213 a	0.042 a	0.030 a	0.048 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	0.197 a	0.164 a	0.204 a	0.046 a	0.039 a	0.050 a
p-valor	0.0344			0.2275		

Cv. (%)	22.72	19.31
---------	-------	-------

Tabela 6

Tratamentos	01- Massa fresca raiz (kg/planta)			01- Massa seca raiz (kg/planta)		
	Pérola	Valente	Esplendor	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	0.0090 a	0.0084 a	0.0088 b	0.0083 a	0.0065 a	0.0079 a
BV02	0.0089 a	0.0081 a	0.0113 ab	0.0081 a	0.0070 a	0.0100 a
CCTB04+CCTB09+CCTB05	0.0090 a	0.0071 a	0.0129 a	0.0082 a	0.0067 a	0.0110 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	0.0106 a	0.0092 a	0.0104 ab	0.0092 a	0.0082 a	0.0098 a
p-valor	0.4578			0.1373		
Cv. (%)	21.54			20.32		

Tabela 7

Tratamentos	01- Massa fresca grãos (kg/planta)			01- Massa seca grãos (kg/planta)		
	Pérola	Valente	Esplendor	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	0.084 a	0.059 a	0.086 a	0.0420 a	0.030 a	0.041 ab
BV02	0.091 a	0.061 a	0.076 a	0.0450 a	0.029 a	0.038 ab
CCTB04+CCTB09+CCTB05	0.094 a	0.057 a	0.098 a	0.0460 a	0.029 a	0.048 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	0.084 a	0.077 a	0.076 a	0.0442 a	0.036 a	0.036 b

p-valor	0.5104	0.3818
Cv. (%)	18.04	16.26

Tabela 8

01- Massa fresca vagens (kg/planta)			
Tratamento	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	0.1668 a	0.1070 b	0.1416 a
BV02	0.1650 a	0.1274 ab	0.1310 a
CCTB04+CCTB09+CCTB05	0.1560 a	0.1040 b	0.1500 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	0.1665 a	0.1452 a	0.1374 a
p-valor	0.3536		
Cv. (%)	14.97		

Tabela 9

01- Número de vagens/planta				01- Número de grãos/vagem		
Tratamentos	Pérola	Valente	Esplendor	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	36.4 a	36.0 a	41.6 a	4.2445 ab	3.9578 ab	5.0021 a
BV02	33.0 a	39.6 a	38.8 a	4.8503 a	3.5321 b	5.1009 a
CCTB04+CCTB09+CCTB05	32.6 a	33.0 a	43.2 a	4.5276 ab	4.1882 a	5.3157 a

bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	34.6 a	41.4 a	37.2 a	4.1622 b	3.9831 ab	5.1085 a
p-valor	0.8306			0.193		
Cv. (%)	14.76			8.48		

Tabela 10

01- Produtividade em kg/ha			
Tratamento	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	6090.000 a	4013.515 ab	5914.611 ab
BV02	6798.134 a	3625.000 b	4987.557 bc
CCTB04+CCTB09+CCT B05	6526.419 a	3625.000 b	6672.673 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	6373.743 a	4699.178 a	4823.316 c
p-valor	0.2187		
Cv. (%)	11.43		

Tabela 11

Tratamentos	02- Massa fresca p. aérea (kg/planta)			02- Massa seca p. aérea (kg/planta)		
	Pérola	Valente	Esplendor	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	0.068 a	0.112 a	0.131 a	0.028 a	0.032 a	0.033 a
BV02	0.096 a	0.098 a	0.132 a	0.028 a	0.028 a	0.035 a

CCTB04+CCTB09+CCTB05	0.082 a	0.121 a	0.0132 a	0.025 a	0.032 a	0.033 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	0.091 a	0.143 a	0.110 a	0.027 a	0.034 a	0.034 a
p-valor	0.7616			0.7161		
Cv. (%)	26.57			13.82		

Tabela 12

Tratamentos	02- Massa fresca raiz (kg/planta)			02- Massa seca raiz (kg/planta)		
	Pérola	Valente	Esplendor	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	0.0036 a	0.0101 a	0.0103 a	0.0033 a	0.0093 a	0.0092 a
BV02	0.0061 a	0.0072 a	0.0083 a	0.0053 a	0.0066 a	0.0076 a
CCTB04+CCTB09+CCTB05	0.0054 a	0.0090 a	0.0083 a	0.0047 a	0.0081 a	0.0077 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	0.0047 a	0.0081 a	0.0098 a	0.0043 a	0.0075 a	0.0092 a
p-valor	0.8443			0.7979		
Cv. (%)	31.63			29.36		

Tabela 13

02- Massa fresca vagens (kg/planta)			
Tratamento	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	0.081 a	0.1420 a	0.1356 a

BV02	0.097 a	0.1344 a	0.1324 a
CCTB04+CCTB09+CCTB05	0.095 a	0.1472 a	0.1300 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	0.093 a	0.1372 a	0.1376 a
p-valor	0.9107		
Cv. (%)	14.54		

Tabela 14

Tratamentos	02- Massa fresca grãos (kg/planta)			02- Massa seca grãos (kg/planta)		
	Pérola	Valente	Esplendor	Pérola	Valente	Esplendor
Controle	0.046 a	0.080 a	0.081 a	0.024 a	0.038 a	0.040 a
BV02	0.048 a	0.078 a	0.077 a	0.022 a	0.040 a	0.037 a
CCTB04+CCTB09+CCTB05	0.054 a	0.085 a	0.079 a	0.028 a	0.042 a	0.039 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	0.049 a	0.074 a	0.078 a	0.026 a	0.034 a	0.037 a
p-valor	0.502			0.2255		
Cv. (%)	15.88			16.28		

Tabela 15

Tratamentos	02- Número de vagens/planta			02- Número de grãos/vagem		
	Pérola	Valente	Esplendor	Pérola	Valente	Esplendor

Controle	20.8 a	44.4 a	34.6 a	4.2470 a	3.7784 a	5.5098 a
BV02	23.8 a	38.0 a	32.8 a	3.8576 a	4.3368 a	5.5405 a
CCTB04+CCTB09+CCTB05	23.2 a	40.2 a	33.4 a	4.2768 a	4.5287 a	6.1214 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	23.8 a	39.8 a	34.4 a	3.8407 a	3.7420 a	5.5014 a
p-valor	0.8216			0.0467		
Cv. (%)	15.72			12.99		

Tabela 16

02- Produtividade em kg/ha			
Tratamento	Pérola	Valente	Esplendor
Testemunha	3480 a	4750 a	5500.0 a
Controle	3190 a	5000 a	5087.5 a
BV02	4060 a	5250 a	5362.53 a
CCTB04+CCTB09+CCTB05	3770 a	4250 a	5087.5 a
bixafen + protioconazol + trifloxistrobina	3480 a	4750 a	5500.0 a
p-valor	0.02219		
Cv. (%)	16.07		

Tabela 17