UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FRANCISCA HORTÊNCIA COURAS DIAS

**BIOESTIMULANTES NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A PATÓGENOS EM
FEIJÃO GUANDU**

AREIA
2021

FRANCISCA HORTÊNCIA COURAS DIAS

**BIOESTIMULANTES NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A PATÓGENOS EM
FEIJÃO GUANDU**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de **Mestre** em Agronomia, área de concentração Agricultura Tropical.

Orientação:

Prof^ª. Dra. Luciana C. do Nascimento

**AREIA
2021**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

D541b Dias, Francisca Hortência Couras.
Bioestimulantes na indução de resistência a
patógenos em feijão guandu / Francisca Hortência Couras
Dias. - Areia, 2021.
67 f.

Orientação: Luciana Cordeiro do Nascimento.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Agronomia. 2. *Cajanus cajan*. 3. Controle
alternativo. 4. Patologia de sementes. I. Nascimento,
Luciana Cordeiro do. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 631/635(02)

FRANCISCA HORTÊNCIA COURAS DIAS
BIOESTIMULANTES NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA À PATÓGENOS EM
FEIJÃO GUANDU

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de **Mestre** em Agronomia, área de concentração Agricultura Tropical.

BANCA EXAMINADORA

Luciana C. do Nascimento

Prof^a. Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento
Orientadora
PPGA/ CCA/ UFPB

Guilherme Silva de Podestá

Prof. Dr. Guilherme Silva de Podestá
Avaliador Externo
UFPB/CCA

José George Ferreira Medeiros

Prof. Dr. José George Ferreira Medeiros
Avaliador Externo
UFCG

AREIA

2021

Aos meus pais, Iranir Dias da Silva Couras e Edmilson Couras Silva

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, por toda proteção, cuidado e amor que sempre teve com a minha vida, por ter me dado forças para nunca desistir dos meus sonhos e por todas as bênçãos na minha vida.

Aos meu pais, Edmilson Couras Silva e Iranir Dias da Silva Couras, por todo apoio e incentivo na minha vida acadêmica, por sempre se fazerem presentes em todos os momentos mesmo com a distância, por todo amor, cuidado e proteção, vocês são a minha base e o meu incentivo diário para conquistar os meus sonhos.

As minhas irmãs, Eclésia Régis, Edlene Régis, Mônica Couras e Olga Couras, por todo companheirismo, incentivo e conversas de apoio, pelos momentos de alegria compartilhados e nossa união.

Aos meus sobrinhos, Daniele Régis, Jeovanesa Régis, Flávia Régis, Lucas Régis, Maria Helena e Pedro Régis, pela amizade e alegria compartilhada.

À Ademar Trigueiro, por todos os momentos de incentivo, compreensão e paciência durante essa fase, por sempre me ajudar nos momentos que precisei, por todo amor e carinho.

À Prof. Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento, por ter me orientado durante o mestrado, por todos os ensinamentos e conselhos, muito obrigada.

Ao Prof. Dr. Guilherme Silva de Podestá e Prof. Dr. José George Ferreira Medeiros por aceitarem o convite de participação da banca e as contribuições enriquecedoras ao trabalho.

Aos meus colegas do Laboratório de Fitopatologia (LAFIT), em especial a Hilderlande Florêncio, Edcarlos Silva, Eloyza Gomes e Guilherme Chaves, por toda a ajuda durante a condução do experimento e conhecimento passado.

Aos colegas de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia, em especial, Maria Silvana e Khyson Abreu, por todos os momentos de dificuldade que passamos juntos, ajuda e alegria compartilhada.

Aos meus amigos, Alícia Nayana, Daniel Eliziário, Eloyza Gomes, Jéssika Gonçalves, Keka, Lucas Gomes, Raphael Jovino, Thainá Cândido por todo o carinho, conselhos, cuidado e momentos especiais compartilhados.

Muito Obrigada!

DIAS, F.H.C. **Bioestimulantes na indução de resistência a patógenos em feijão guandu.** (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2021.

RESUMO GERAL

O feijão guandu (*Cajanus cajan*) é uma leguminosa utilizado como cobertura morta, no intuito de reter mais umidade em áreas com baixa precipitação, para a adubação verde e na alimentação humana e animal. Estudos relatam presença de fungos associados às sementes de guandu. Entre os métodos de controle de patógenos em sementes, a indução de resistência em plantas vem sendo estudada como uma alternativa ao uso de agentes químicos com resultados promissores. O trabalho teve como objetivo determinar o efeito de elicitores de resistência a incidência de patógenos em sementes e em plantas de feijão guandu, bem como no poder fungicida/fungistático do elicitor *in vitro* sobre *Fusarium* sp.. Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Fitopatologia e em casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias, UFPB. Foram utilizados os tratamentos: T₀ = Testemunha, T₁ = Fungicida, T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Para avaliar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes, foram realizados os testes de sanidade, germinação e emergência. Para verificar o efeito dos tratamentos nos isolados *in vitro*, adicionaram-se os tratamentos em meio de cultura BDA, vertidos em placas de Petri, adicionando um disco de 5 mm da colônia fúngica. O controle *in vivo* foi realizado em casa de vegetação onde avaliaram-se a incidência, trocas gasosas e a atividade das enzimas peroxidase (POD), polifenoloxidase (PPO) e fenilalanina amônia liase (FAL) em plantas de guandu, com 30 dias após a semeadura. Os resultados observado foram, a maior ocorrência de *Aspergillus* sp. (21,5%) foi observada no tratamento T5. Os tratamentos T5, T7 e T9 mostraram-se eficientes na redução de *A. niger*. Em relação à incidência de *Cladosporium* sp., observou-se que os tratamentos T5, T6, T7, T8 e T9 foram eficientes, provocando uma redução significativa do patógeno. Os tratamentos T7, T8 e T9 proporcionaram resultados promissores para as variáveis de germinação, primeira contagem, sementes mortas e índice de velocidade de germinação. No teste de emergência observou-se que a maioria dos tratamentos não interferiram nas variáveis avaliadas, exceto os tratamentos T4 e T7. No teste *in vitro*, os tratamentos T1, T2, T5, T6 e T8 apresentaram os melhores resultados com relação a inibição do diâmetro médio da colônia (DMC), índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e percentual de inibição do crescimento micelial (PIC). Para o controle de incidência do *Fusarium* sp. (Figura 2), os tratamentos T3, T5, T6, T7, T8 e T9 mostraram-se eficientes no controle de incidência do patógeno. Para a atividade da peroxidase (POD), o tratamento T4 estimulou a atividade dessa enzima, apresentando o maior resultado. Os elicitores utilizados são eficientes na redução de incidência de *A. niger* e *Cladosporium* sp. em sementes de feijão guandu. Os tratamentos T7, T8 e T9 se destacam proporcionando incrementos nas variáveis fisiológicas analisadas. Os tratamentos T2, T5, T6 e T8 são eficientes no controle do crescimento micelial no teste *in vitro*. Os tratamentos T3, T8 e T9 são eficientes no controle da esporulação do *Fusarium* sp. Os tratamentos T3, T5, T6, T7, T8 e T9 reduzem a incidência de *Fusarium* sp. em plantas de feijão guandu. Os tratamentos não interferem nas trocas gasosas em plantas de guandu. Apenas o tratamento T4 induz a atividade da enzima peroxidase em plantas de feijão guandu.

Palavras-chave: *cajanus cajan*; controle alternativo; patologia de sementes.

DIAS, F.H.C. **Biostimulants in the induction of resistance to pathogens in pigeon pea.**(Master in Agronomy) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2021.

GENERAL ABSTRACT

Pigeon pea (*Cajanus cajan*) is a legume used as mulch, in order to retain more moisture in areas with low rainfall, for green manure and in human and animal food. Studies report the presence of fungi associated with pigeon pea seeds. Among the methods of controlling pathogens in seeds, the induction of resistance in plants has been studied as an alternative to the use of chemical agents with promising results. The objective of this work was to determine the effect of resistance elicitors to the incidence of pathogens in pigeon pea seeds and plants, as well as in the fungicidal/fungistatic power of the elicitor *in vitro* on *Fusarium* sp.. The experiments were carried out at the Phytopathology and Laboratory. in a greenhouse at the Centro de Ciências Agrárias, UFPB. The following treatments were used: T0 = Control, T1 = Fungicide, T2 = AgroMos®, T3 = Liqui-Plex® Bonder, T4 = Liqui-Plex® CaMg+B, T5 = Liqui-Plex® Fast, T6 = Sheet Top® Aminoagro , T7 = Master Potassium®, T8 = Master RR Ultra ® and T9 = Viusid® Agro. To assess the physiological and sanitary quality of the seeds, health, germination and emergence tests were performed. To verify the effect of treatments on isolates *in vitro*, treatments were added in PDA culture medium, poured into Petri dishes, adding a 5 mm disk of fungal colony. The *in vivo* control was carried out in a greenhouse, where the incidence, gas exchange and activity of the enzymes peroxidase (POD), polyphenoloxidase (PPO) and phenylalanine ammonia lyase (FAL) in pigeon pea plants were evaluated 30 days after seeding. The results observed were, the highest occurrence of *Aspergillus* sp. (21.5%) was observed in treatment T5. Treatments T5, T7 and T9 were efficient in reducing *A. niger*. Regarding the incidence of *Cladosporium* sp., it was observed that treatments T5, T6, T7, T8 and T9 were efficient, causing a significant reduction of the pathogen. Treatments T7, T8 and T9 provided promising results for the variables of germination, first count, dead seeds and germination speed index. In the emergency test it was observed that most treatments did not interfere in the variables evaluated, except for treatments T4 and T7. In the *in vitro* test, treatments T1, T2, T5, T6 and T8 showed the best results regarding inhibition of the average colony diameter (DMC), mycelial growth velocity index (IVCM) and percentage of inhibition of mycelial growth (PIC). To control the incidence of *Fusarium* sp. (Figure 2), treatments T3, T5, T6, T7, T8 and T9 proved to be efficient in controlling the incidence of the pathogen. For peroxidase activity (POD), the T4 treatment stimulated the activity of this enzyme, showing the highest result. The elicitors used are efficient in reducing the incidence of *A. niger* and *Cladosporium* sp. in pigeon pea seeds. Treatments T7, T8 and T9 stand out, providing increments in the analyzed physiological variables. Treatments T2, T5, T6 and T8 are efficient in controlling mycelial growth in the *in vitro* test. Treatments T3, T8 and T9 are efficient in controlling *Fusarium* sp. sporulation. Treatments T3, T5, T6, T7, T8 and T9 reduce the incidence of *Fusarium* sp. in pigeon pea plants. The treatments do not interfere with gas exchange in pigeon pea plants. Only T4 treatment induces peroxidase enzyme activity in pigeon pea plants.

Keywords: *cajanus cajan*; alternative control; seed pathology.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo II

- Figura 1.** Ocorrência de fungos em sementes crioulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de Cuité - PB. 35
- Figura 2.** Germinação (GE), primeira contagem de germinação (PCG), sementes mortas (SM) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.) tratadas com elicitores de resistência: T0 = Testemunha (água destilada esterilizada), T₁ = Captana, T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). 37
- Figura 3.** Comprimento de raiz (CPR), parte aérea (CPA) e plântula (CPL) e massa seca de raiz (MSR), parte aérea (MSA) e plântula (MSP) em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.) tratadas com elicitores de resistência. Tratamentos: T0 = Testemunha (água destilada esterilizada), T1 = Captana, T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). 38
- Figura 4.** Emergência (EM), primeira contagem de emergência (PCE) e índice de velocidade de emergência (IVE) em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.) tratadas com elicitores de resistência. Tratamentos: T0 = Testemunha (água destilada esterilizada), T1 = Captana, T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). 39

Capítulo III

Figura 1. Diâmetro médio da colônia (DMC), índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), percentual de inibição do crescimento micelial (PIC), esporulação (106 esporos/mL) e percentual de inibição da esporulação (PIE) de *Fusarium* sp., sob aplicação de elicitores. Tratamentos: T₀ = Testemunha (Água destilada esterilizada), T₁ = Fungicida (Azoxistrobina), T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$)..... 53

Figura 2. Incidência de *Fusarium* sp. em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência, aos 38 dias após a semeadura. Tratamentos: T₀ = Testemunha (água destilada esterilizada), T₁ = Fungicida (Azoxistrobina), T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). 54

Figura 3. Condutância estomática (gs) ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), assimilação líquida de CO₂ (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração de CO₂ nos espaços intercelulares (Ci) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), temperatura foliar (TF) (°C), eficiência intrínseca de uso da água (*EiUA*) ($\text{mmol m}^2 \text{ s}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$), eficiência instantânea de uso da água (*EUA*) ($\text{mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) e eficiência instantânea de carboxilação (*EiC*) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$] em plântulas de feijão guandu (*Cajanuscajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência, aos 22 dias após a semeadura. Tratamentos: T₀ = Testemunha (água destilada esterilizada), T₁ = Fungicida (Azoxistrobina), T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$)..... 56

Figura 4. Índice de Clorofila Falker a (ICF a), b (ICF b), total (ICF T) e relação clorofila a/b (ICF a/b) em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência, aos 22 dias após a semeadura. Tratamentos: T₀ = Testemunha (água destilada esterilizada), T₁ = Fungicida (Azoxistrobina), T₂ = AgroMos[®], T₃

= Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$)..... 57

Figura 5. Atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência e inoculadas com *Fusarium* sp., aos 38 dias após a semeadura. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$)..... 58

Figura 6. Atividade enzimática da peroxidase em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência e inoculadas com *Fusarium* sp., aos 38 dias após a semeadura. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$)..... 59

Figura 7. Atividade enzimática da polifenoloxidase em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência e inoculadas com *Fusarium* sp., aos 38 dias após a semeadura. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$)..... 60

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

- Tabela 1.** Descrição dos indutores de resistência utilizados no tratamento de sementes de feijão guandu (*Cajanus cajan*). 32
- Tabela 2.** Incidência de fungos associados às sementes crioulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) tratadas com elicitores de resistência..... 36

Capítulo III

- Tabela 1.** Elicitores a base de aminoácidos utilizados no controle in vitro e in vivo de *Fusarium* sp. isolado de sementes crioulas de feijão guandu oriundas do município de Cuité-PB. 48

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: CONTROLE DE *Fusarium* sp. EM FEIJÃO GUANDU COM ELICITORES DE RESISTÊNCIA

1.INTRODUÇÃO GERAL	14
2.OBJETIVO	16
2.1.OBJETIVO GERAL	16
2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3.REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1.CARACTERIZAÇÃO DO FEIJÃO GUANDU	17
3.2. <i>FUSARIUM</i> SP.	18
3.3.INDUÇÃO DE RESISTÊNCIAS NO CONTROLE DE FITOPATÓGENOS	19
3.4.BIOESTIMULANTES ELICITORES À BASE DE AMINOÁCIDOS	20
4.REFERÊNCIAS	22

CAPÍTULO II: QUALIDADE DE SEMENTES DE FEIJÃO GUANDU COM USO DE ELICITORES

1.INTRODUÇÃO	31
2.MATERIAL E MÉTODOS	32
2.1.LOCAL DO EXPERIMENTO	32
2.2.ELICITORES UTILIZADOS PARA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM FEIJÃO GUANDU	32
2.3.AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES DE FEIJÃO GUANDU	33
2.4.AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE FEIJÃO GUANDU.....	33
2.5.DELINEAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
3.RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.CONCLUSÃO.....	40
5.REFERÊNCIAS	41

CAPÍTULO III: INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE FEIJÃO GUANDU PARA O CONTROLE DE *Fusarium* sp.

1.INTRODUÇÃO	47
---------------------------	-----------

2.MATERIAL E MÉTODOS	48
2.1.LOCAL DO EXPERIMENTO	48
2.2.ELICITORES UTILIZADOS EM FEIJÃO GUANDU	48
2.3.OBTENÇÃO DO ISOLADO DE <i>FUSARIUM</i> SP.	49
2.4.CONTROLE IN VITRO DE <i>FUSARIUM</i> SP. COM ELICITORES	49
2.5.CONTROLE IN VIVO DE <i>FUSARIUM</i> SP. EM PLANTAS DE FEIJÃO GUANDU	50
2.6.INCIDÊNCIA DE <i>FUSARIUM</i> SP. EM PLANTAS DE FEIJÃO GUANDU	50
2.7.TROCAS GASOSAS	51
2.8.ANÁLISES ENZIMÁTICAS	51
2.8.1.Atividade da Fenilalanina Amônia-liase (FAL).....	51
2.8.2.Atividade da Peroxidase (POX)	52
2.8.3.Atividade da Polifenoloxidase (PPO)	52
2.9.ANÁLISE ESTATÍSTICA	52
3.RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.CONCLUSÃO.....	61
5.REFERÊNCIAS	62

CAPÍTULO I

CONTROLE DE *Fusarium* sp. EM FEIJÃO GUANDU COM ELICITORES DE RESISTÊNCIA

1. INTRODUÇÃO GERAL

O feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mill) é uma leguminosa, pertencente à família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo *Phaseoleae* e subtribo *Cajaninae*. É uma cultura de clima tropical, ciclo anual ou perene, com potencial na fixação de nitrogênio, resistente à seca, se desenvolvendo melhor sob altas temperaturas (AZEVEDO et al., 2007; SOUTO et al., 2009; SILVA et al., 2020). No Semiárido, essa planta é utilizada como fonte de cobertura morta, no intuito de reter mais umidade em áreas com baixa precipitação e também para a adubação verde, contribuindo para o aumento de matéria orgânica no solo, ciclagem de nutrientes e cobertura do solo, evitando processos erosivos (BONFIM-SILVA et al., 2016; FERREIRA et al., 2016).

A maioria das espécies vegetais é propagada através das sementes. Dessa forma, é fundamental que as mesmas apresentem ótimas características físicas, fisiológicas, genéticas e sanitárias para que consigam originar plântulas saudáveis, garantindo uma boa produtividade (MARCOS FILHO, 2015).

A qualidade sanitária das sementes pode ser afetada com a presença de patógenos, principalmente fungos. Esses fungos favorecem o desenvolvimento de doenças na semente e podem ser transmissíveis para as plantas, reduzem a qualidade fisiológica da semente, além de favorecer a disseminação do patógeno (SANTOS et al., 2016). Estudos relatam presença de fungos associados às sementes de guandu, destacando-se: *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium* sp., *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium udum*, *Fusarium verticilloides*, *Penicillium* sp., *Rhizopus arrhizus*, *Curvularia lunata*, sendo a murcha do *Fusarium* a doença mais destrutiva da cultura (MAISURIA et al., 2008; PANDEY et al., 2013; ADJOU et al., 2017).

O gênero *Fusarium* possui uma grande capacidade fitopatogênica, essa característica o torna um dos gêneros de fungos mais relevantes (THRANE, 2014). Esse fungo é amplamente distribuído, pode estar presente no ar, água, plantas e solos (MAHMOUDI et al., 2018). Os principais sintomas causados por esse patógeno incluem podridão radicular, tombamento, murcha, escurecimento do feixe vascular, desfolha e morte da planta (AGRIOS, 2005; DEAN et al., 2012).

O tratamento químico ainda é o método mais utilizado no controle de patógenos em sementes, porém, a procura por métodos alternativos tem recebido atenção mundial, por

causarem menos danos ao meio ambiente e ao homem (OLIVEIRA et al., 2017). Com esse novo cenário, a indução de resistência em plantas vem sendo estudada como uma alternativa ao uso de agentes químicos com resultados promissores dentro do manejo de doenças de plantas (ANTONIO et al., 2019).

A indução de resistência ocorre com ativação da defesa da planta através de aspectos fisiológicos. É um método eficiente, uma vez que a planta consegue retardar ou evitar a entrada e colonização do patógeno nos tecidos vegetais (STANGARLIN et al., 2011; PASCHOLATI; DALIO, 2018). A ativação dos genes de defesa das plantas contra patógenos é iniciada a partir de elicitores que são compostos que ativam as vias de defesa vegetal e induzem a produção de metabólitos secundários (BAENAS et al, 2014; ENCISO et al., 2018).

Os aminoácidos são considerados elicitores, por causarem maior tolerância na planta contra o ataque de pragas e doenças (CASTRO; CARVALHO, 2014). Verificou-se que as leguminosas quando supridas com aminoácidos adquirem uma nodulação mais efetiva, ativação da fotossíntese, aumento da translocação, absorção de nutrientes e resistência ao ataque de pragas e doenças (BORSARI, 2013).

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo geral

Determinar a eficiência de bioestimulantes elicitores no controle da incidência de patógenos associados à sementes de feijão guandu, bem como no manejo de *Fusarium* sp. em plantas de guandu.

2.2. Objetivos específicos

Identificar os fungos associados às sementes crioulas de feijão guandu originadas do município de Cuité - PB;

Determinar a influência da associação dos fungos sobre a fisiologia das sementes de guandu;

Avaliar o efeito fungicida/fungistático dos elicitores sobre *Fusarium* sp. *in vitro*;

Avaliar o potencial de elicitores como indutores em respostas de defesa em plantas de feijão guandu no manejo de *Fusarium* sp.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Caracterização do feijão guandu

O feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mill) é uma leguminosa forrageira, pertencente à família Fabaceae, originária do norte do subcontinente indiano e se expandiu muitos anos a.C. em parte da África, Ásia, América Latina e Caribe (KHOURY et al., 2015). No Brasil, esta cultura foi inserida através da rota dos escravos em navios negreiros provenientes da África, tornando-se amplamente difundida e seminaturalizada na região tropical (SEIFFERT; THIAGO, 1983).

Apresenta diferentes nomenclaturas, dependendo do local de cultivo, podendo ser conhecido por guandul, paraguay, sachacafé, falso café, arveja (Argentina), feijão guandu, andu (Brasil), quinchoncho (Venezuela), frijol de árbol (México), cumandái (Paraguai), redgram, tur, arhar, dahl, pigeonpea (Índia), pigeonpea (Austrália), pois d'angole (países de língua francesa), Puerto Ricanbean, pigeonpea (Havaí) (AZEVEDO et al., 2007).

É uma planta semi-perene, permanecendo verde ao longo de todo ano, possui um sistema radicular profundo e ramificado que, além de torná-lo capaz de resistir ao estresse hídrico e reciclar nutrientes, possibilita romper camadas adensadas de solo, como pé de arado, por isso muitas vezes é chamado de “arado biológico” (SOUTO et al., 2009; PENTEADO, 2010). Essa planta apresenta um porte arbustivo ereto, com a altura variando entre 2 e 3 m e um ciclo de vida de 3 a 4 anos. A espécie tem rápido crescimento, cobrindo o solo e aumentando a biomassa no estágio inicial, tendo um importante papel na adubação (BELTRAME; RODRIGUES, 2007).

Suas sementes possuem formato arredondado, com 4 a 8mm de diâmetro e quando imaturas apresentam coloração verde ou púrpura; depois da maturação a coloração passa a ser castanha, preta, marrom ou púrpura, tendo em média 1.150 a 3.630 unidades por quilo (SEIFFERT; THIAGO, 1983).

Uma das principais formas de utilização dessa cultura é na restauração de áreas degradadas. Quando incorporada como adubo verde ocasiona melhorias nas propriedades físicas e químicas do solo, utilizando o próprio porte vegetativo para proteger a cobertura do solo. O guandu também é recomendado como planta de cobertura, sendo capaz de melhorar a disponibilidade de fósforo e nitrogênio no solo, contribuindo para o desenvolvimento de culturas posteriores (BERTONI; LOMBARDI, 2008; PEDRA et al., 2012; RAYOL; ALVINO-RAYOL, 2012).

3.2. *Fusarium* sp.

O gênero *Fusarium* teve sua descrição original feita em 1809, posteriormente, em 1935 esse gênero foi separado em mais de 1000 indivíduos em 16 segmentações, divididas em 65 espécies e 55 variedades (NELSON, 1991). Suas principais características morfológicas auxiliam na identificação, como a forma e tamanho de conídios, que podem ser alongados e fusiformes, ausência ou presença de clamidósporos e crescimento de colônia em diferentes meios de cultura (GERLACH; NIRENBERG, 1982).

As espécies de *Fusarium* podem colonizar principalmente o solo, apresentando resistência graças a suas estruturas morfológicas chamadas de clamidósporo, essas estruturas são responsáveis por sua sobrevivência por longos períodos nesses ambientes (SOUSA, 2017). Esse fungo também pode ser encontrado em sementes, folhas, flores além de frutos; colonização favorecida através da disseminação dos seus conídios pelo ar (LAZAROTTO, 2013).

O gênero *Fusarium* sp. tem a habilidade de colonizar todas as partes das sementes, sendo assim classificados como necrotróficos. Essa é uma característica preocupante, pois é através das sementes que grande parte das culturas de importância econômica são propagadas e os microrganismos são disseminados e introduzidos em novas áreas (CAMARGO et al., 2017).

As principais espécies do gênero *Fusarium* sp. associadas às sementes de feijão guandu são *F. moniliforme*, *F. udum*, *F. oxysporum*, *F. verticilloides* e *F. nivale* (CHAUDHARI et al., 2017; ADJOU et al., 2017; PANDEY et al., 2013). A presença deste patógeno em sementes causa uma redução na qualidade sanitária da mesma e no seu potencial fisiológico, acarretando a um baixo poder germinativo, menor desenvolvimento de plântulas e a transmissão para a parte aérea e sistema radicular (BARBOSA et al., 2013; MUNIZ et al., 2004).

Os sintomas iniciais na planta são a murcha, através o apodrecimento de sementes e do sistema radicular, clorose das folhas jovens e queda das folhas mais velhas e em seguida morte das plantas infectadas. Ao seccionar o caule observa-se o escurecimento dos tecidos vasculares, com lesões marrons (KEERIO et al., 2017). A murcha do *Fusarium* é considerada a doença mais destrutiva para o feijão guandu, tornando-se um fator limitante para a produção da cultura (BISWAS et al., 2020).

3.3. Indução de resistências no controle de fitopatógenos

A utilização do controle químico através de fungicidas sintéticos tem sido a primeira opção de estratégia para controle de fungos fitopatogênicos. Porém, os efeitos danosos ao meio ambiente e o desenvolvimento de resistência devido ao uso frequente desses produtos, induziram a uma insatisfação e abriram oportunidades de uso com novas estratégias de manejo (FIERRO-CRUZ et al., 2017).

Para diminuir esses impactos negativos da agricultura, é importante reduzir a dependência de fertilizantes, tornando necessário o uso de práticas seguras, de gestão de custos e ecologicamente correta em produção agrícola (AHMED et al., 2020). O manejo com indutores de resistência é considerado uma técnica ecológica que favorece a substituição do uso de agrotóxicos, podendo ser empregado em associação com outras práticas de manejo integrado de doenças (DIAS-ARIEIRA et al., 2010).

A indução de resistência ocorre com a ativação dos mecanismos de defesa da planta contra os patógenos, essa ativação pode ser feita com a utilização de moléculas eliciadoras de origem biótica ou abiótica (LORENZETTI et al., 2018). Esse fenômeno é chamado de resistência sistêmica adquirida (RSA) ou resistência sistêmica induzida (RSI) que, apesar de diferentes, são fenotipicamente equivalentes, em que as plantas, após exposição a um agente indutor, têm seus mecanismos de defesa ativados não apenas no sítio de indução, mas também em outros locais distantes dele (DEMARTELAERE, et al., 2020).

A resistência sistêmica adquirida (RSA) é um mecanismo de defesa que pode conferir proteção prolongada contra uma ampla de microrganismos (VAN LOON et al., 2006). A resistência induzida (RSI) ocorre com a ativação dos mecanismos secundários através de respostas bioquímicas, ocasionando alterações na atividade enzimática ligada a patogênese, como por exemplo, a peroxidase, fenilalanina amônia-liase e polifenoloxidase, onde ativam as rotas de defesa possíveis de retardar ou eliminar a ação do patógeno (SAROJ et al., 2015).

A indução de resistência pode ocorrer com a utilização de elicitores, método de controle alternativo que ativa os mecanismos de defesa das plantas (ALENCAR et al., 2020). Os elicitores são classificados da mesma maneira que os fatores de estímulo ao estresse, em bióticos ou abióticos (CAICEDO-LÓPEZ et al., 2021).

Elicitores bióticos são compostos geradas por organismos vivos e hormônios vegetais, como é o caso do ácido salicílico (SA) e de compostos derivados do jasmonato, como o metil jasmonato (MeJa) e ácido jasmônico (JA), outros compostos como polissacarídeos, proteínas

e ácidos graxos já foram estudados e apresentaram ação elicitora (ANGELOVA et al., 2006; BAENAS et al., 2014; CAICEDO-LÓPEZ et al., 2021).

Os elicitores abióticos estimulam a síntese de fitoquímicos em plantas através de estímulos químicos ou físicos, os químicos (íons metálicos, etanol e sais inorgânicos), que atuam na integridade da membrana celular na planta, os físicos (estresse osmótico, salino, nutricional, radiação UV), que, de modo geral, causam estresse à planta (ANGELOVA et al., 2006; BAENAS et al., 2014; OWOLABI et al., 2018).

Existe uma gama de variedades de elicitores abióticos, os principais com relatos na literatura são os silicatos de potássio, acibenzolar-S-metil, fosfito e aminoácidos (CHERIF, ASSELIN; BÉLANGER, 1994; FÖRSTER et al., 1998; ARAÚJO; MENEZES, 2009; ABD EL-AAL et al., 2010). Os elicitores bióticos ou abióticos representam uma alternativa agrícola sustentável para substituição do uso de agroquímicos na produção de alimentos, porém, o conceito é relativamente novo e ainda está sendo pesquisado (CAICEDO-LÓPEZ et al., 2021).

A aplicação de aminoácidos ocorre de forma suplementar para a planta, propiciando um equilíbrio metabólico, atuando na germinação, floração e maturação (ALVES et al., 2018). Quando os aminoácidos são aplicados em conjunto com micronutrientes, ocorre um aumento no seu potencial (COELHO et al., 2011). O aminoácido ao ser aplicado sobre na semente, em superfície foliar e no solo induz a resistência contra vários patógenos foliares e radiculares. Ocasionalmente o acúmulo de PR-proteínas por diferentes caminhos, dependendo do sistema patógeno-hospedeiro (COHEN, 2001).

3.4. Bioestimulantes elicitores à base de aminoácidos

Os bioestimulantes são definidos como fatores que intervêm nos processos naturais de nutrição das plantas, melhorando a eficiência do uso de nutrientes com mecanismo que envolve tolerância ao estresse, melhoria dos traços de qualidade e aumento da disponibilidade de nutrientes (KOCIRA et al., 2020).

Esses produtos bioestimulantes são misturas de reguladores vegetais naturais ou sintéticos, microrganismos e/ou compostos de natureza química (aminoácidos, vitaminas e nutrientes) (SANTOS et al., 2017). Estas substâncias podem trazer benefícios para as culturas, quando aplicados via sementes, superfície foliar ou solo, podendo auxiliar na absorção e eficiência dos nutrientes (SILVA et al., 2016).

Os aminoácidos são constituintes das proteínas e são envolvidos na forma solúvel no metabolismo das plantas (RAI, 2002; MEDICI et al., 2004). Portanto, podem influenciar diversos processos fenológicos e fisiológicos como desenvolvimento vegetativo das plantas, germinação de sementes, maturação de frutos, sinalização e ativação de sistemas de defesa contra estresses abióticos e bióticos, ajuste osmótico, desativação de espécies reativas de oxigênio e como uma fonte de reserva de nitrogênio, entre outros (TEXEIRA et al., 2017).

A presença de aminoácidos nas plantas está envolvida no metabolismo primário, participam de uma ampla gama de reações enzimáticas celulares como constituintes de diferentes enzimas, como aminotransferases, desidrogenases, liases e descarboxilases (ALFOSEA-SIMÓN et al., 2020). Complexos de aminoácidos são dimensionados e adicionados em fontes de fertilizantes de micronutrientes, se tornando uma forma de adquirir alguns benefícios, por exemplo, melhor absorção de nutrientes (GHASEMI et al., 2012).

Utilizando fertilizantes a base de aminoácidos, Wang et al., (2014) concluíram que houve um aumento no desenvolvimento radicular, conteúdo de clorofila, área foliar e massa seca de plantas de canola (*Brassica napus*). Trabalhando com soja (*Glycine max*), Santos et al. (2014) relataram que a utilização de bioestimulantes contendo aminoácidos proporcionou incrementos na massa seca da folha, massa seca do caule, massa seca da vagem e área foliar, tanto em aplicações via semente quanto via foliar.

Algumas pesquisas relataram a eficiência do uso de aminoácidos na indução de resistência contra fungos, bactérias e nematoides. Em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) contra *Phytophthora infestans* (COHEN, 1994) e *Xanthomonas vesicatoria* (COHEN, 2002), cancro em limoeiro (*Citrus limon*) causado por *Xanthomonas citri* (HABASI et al., 2013) e . Porém, as pesquisas sobre o efeito dos aminoácidos na indução de resistência em plantas ainda é bastante limitada (HABASI et al., 2013).

4. REFERÊNCIAS

- EL- AAL, F. S. A.; SHAHEEN, A. M.; AHMED, A. A.; MAHMOUD , A. R. Effect of foliar application of urea and amino acids mixtures as antioxidants on growth, yield and characteristics of squash. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v.6, n.5, p.583-588, 2010.
- ADJOU, E. S.; MÈTOMÈ, G.; GBAGUIDI, B. A.; DAHOUENON-AHOUSSE, E.; SOHOUNHLOUE, D. Evaluation of the fungal microflora infesting pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in southern Benin and associated mycological hazards. **International Journal of Health, Animal science and Food safety**, v.4, p.49-58, 2017.
- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. St. Louis, MO: Academic Press, 2005.
- ALENCAR, M. S. R.; SOLINO, A. J. S.; OLIVEIRA, J. S. B.; PASCHOLATI, S. F.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Induction of defense mechanisms in tomato plants by saprobic fungi filtrates against early blight disease. **Revista Caatinga**, v.33, n.3, p. 671-678, 2020.
- ALFOSEA-SIMÓN, M.; SIMÓN-GAO, S.; ZAVALA-GONZALEZ, E. A.; CÁMARA-ZAPATA, J. M.; SIMÓN, I.; MARTÍNEZ-NICOLÁS, J. J.; LIDÓN, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. Physiological, Nutritional and Metabolomic Responses of Tomato Plants After the Foliar Application of Amino Acids Aspartic Acid, Glutamic Acid and Alanine. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1-16, 2020.
- ALVES, M.V. Aminoácidos e micronutrientes no tratamento de sementes da soja. **Unoesc & Ciência - ACET Joaçaba**, v.9, p. 99-104, 2018.
- ANGELOVA, Z.; GEORGIEV, S.; ROOS, W. Elicitation of plants. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 20, n. 2, p. 72-83, 2006.
- ANTONIO, G. L.; DONATO, R. L.; IOSSI, M. R.; FIRMINO, A. C. Ação de indutores de resistência em cacauzeiro infectados com *Ceratocystis cacaofunesta*. **Summa phytopathologica**, v. 45, n.1, p.104-106, 2019.
- ARAÚJO, F. F.; MENEZES, D. Indução de resistência a doenças foliares em tomateiro por indutores biótico (*Bacillus subtilis*) e abiótico (Acibenzolar-S-Metil). **Summa Phytopathologica**, v. 35, n.3, p. 169-172, 2009.
- AZEVEDO R. L.; RIBEIRO, G. T.; AZEVEDO, C. L. L. Feijão Guandu: Uma Planta Multiuso. **Revista da Fapese**, v.3, n. 2, p. 81-86, 2007.
- BAENAS, N.; GARCÍA-VIGUERA, C.; MORENO, D. A. Elicitation: A Tool for Enriching the Bioactive Composition of Foods. **Molecules**, v. 19, n.9, p. 13541-13563, 2014.
- BARBOSA, R. M.; SANTOS, J. F.; LOPES, M. M.; PANIZZI, R. C.; VIEIRA, R. D. Chemical control of pathogens and the physiological performance of peanut seeds. **International Journal of Food, Agriculture and Environment**, v.11, n.2, p.322-326, 2013.
- BELTRAME, T. P.; RODRIGUES, E. Feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) na restauração de florestas tropicais. **Semina: Ciências Agrárias**, v.28, n.1, p.19-28, 2007.

- BENT, A. F.; MACKEY, D. Elicitors, effectors and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. **Annual Review Phytopathology**, v.45, p. 399-436, 2007.
- BERTONI, J.; LOMBARDI, N. F. **Conservação do Solo**.7.ed, São Paulo: Editora Ícone, 2008, 355p.
- BISWAS, K.; TARAFDAR, A.; KUMAR, R.; SINGHVI, N.; GHOSH, P.; SHARMA, M.; PABBI, S.; SHUKLA, P. Molecular Analysis of Disease-Responsive Genes Revealing the Resistance Potential Against *Fusarium* Wilt (*Fusarium udum* Butler) Dependent on Genotype Variability in the Leguminous Crop Pigeonpea. **Frontiers in Genetics**, v. 11, p. 1-15, 2020.
- BONFIM-SILVA, E. M.; OLIVEIRA, J. R.; ANICESIO, E. C.; SILVA, T. J. A. Teor de clorofila e desenvolvimento de feijão guandu adubado com fosfato natural reativo em Latossolo do Cerrado. **Revista Agrarian**, v.9, n.33, p. 248-253, 2016.
- BORSARI, F. Tecnologia de Nutrição: Os aminoácidos são considerados aditivos pelo Mapa e tem uso aprovado como fertilizantes, como estabilizantes da formulação. **Revista Agro DBO**, p. 47, 2013.
- CAICEDO-LÓPEZ, L. H.; ARANDA, A. L. V.; LA O, D. S.; GÓMEZ, E. Z.; MÁQUEZ, E. E.; ZEPEDA, H. R. Elicidores: implicações bioéticas para a agricultura e a saúde humana. **Revista Bioética**, v. 29, n.1, p. 76-86, 2021.
- CAMARGO, M. P.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. Efficiency of Blotter test and agar culture medium to detect *Fusarium graminearum* and *Pyricularia grisea* in wheat seeds. **Journal of Seed Science**, v.39, n.3, p.297-302, 2017.
- CASTRO, P. R. C.; CARVALHO, M. E. A. **Aminoácidos e suas aplicações na agricultura**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2014. 60p.
- CHAUDHARI, A.; SHARMA, H.; JEHANI, M.; SHARMA, J.K. Seed Mycoflora Associated with Pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.], their Significance and the Management. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v.11, n.1, p.567-575, 2017.
- CHERIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R. R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, v.84, p.236-242, 1994.
- COELHO, H. A.; FILHO, H. G.; BARBOSA, R. D.; ROMEIRO, J. C. T.; POMPERMAYER, G. V. Eficiência Agronômica da aplicação foliar de nutrientes na cultura da soja. **Revista Agrarian**, v.4, n.11, p.73-78, 2011.
- COHEN, Y.; NIDERMAN, T.; MOSINGER, E.; FLUHR, R. β -Aminobutyric acid induces the accumulation of pathogenesis-related proteins in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and resistance to late blight infections caused by *Phytophthora infestans*. **Plant Physiology**, v.104, n.1, p. 59-66, 1994.
- COHEN, Y. β -Amino-butyric acid-induced resistance against plant pathogens. **Plant Disease**, v. 86, n.5, p. 448–457, 2002.
- COHEN, Y. The BABA story of induced resistance. **Phytoparasitica**, v.29, n.5, p.1-4, 2001.
- DEAN, R.; VAN KAN, J. A. L.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E.; DI PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.;

FOSTER, G. D. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v.13, n.4, p. 414-430, 2012.

DEMARTELAERE, A. C. F.; NASCIMENTO, L. C.; PRESTON, H. A. F.; SILVA, H. F.; SILVA, E. C.; PRESTON, W.; FEITOSA, S. S.; SILVA, R. M.; SILVA, T. B. M.; SANTOS, J. J. M.; SOUZA, J. B. Aspectos morfofisiológicos, variabilidade genética e controle alternativo da *Alternaria alternata* f. sp. *citri* em tangerineira ‘Dancy’. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 90621-90646, 2020.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, L. R.; ARIEIRA, J. O. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v.36, n. 3, p. 228-232, 2010.

ENCISO, E. L. G.; OLIVO, A. R.; MENDOZA, A. B.; GAONA, S. S.; MORALES, S. G. Efecto de elicitores de origen natural sobre plantas de tomate sometidas a estrés biótico. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**, v.9, n.20, p. 1-11, 2018.

FERREIRA, E. M.; ANDRAUS, M. P.; CARDOSO, A. A.; COSTA, L. F. S. LÔBO, L. M.; LEANDRO, W. M. Recuperação de áreas degradadas, adubação verde e qualidade da água. **Revista Monografias Ambientais – REMOA**, v. 15, n.1, p.228-246, 2016.

FIERRO-CRUZ, J.; JIMÉNEZ, P.; COY-BARRERA, E. Fungal endophytes isolated from *Protium heptaphyllum* and *Trattinnickia rhoifolia* as antagonists of *Fusarium oxysporum*. **Revista Argentina de Microbiologia**, v.49, n.3, p.255-263, 2017.

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

GERLACH, W.; NIRENBERG, H. **The genus *Fusarium* - A pictorial atlas**. Biologische Bundesanstalt, Berlin, 1982. 406 p.

GHASEMI, S.; KHOSHGOFTARMANESH, A. H.; HADADZADEH, H.; JAFARI, M. Synthesis of iron-amino acid chelates and evaluation of their efficacy as iron source and growth stimulator for tomato in nutrient solution culture. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 31, n.4, p. 498-508, 2012.

HASABI, V.; ASKARI, H.; ALAVIS, S. M.; ZAMANIZADEH, H. Effect of amino acid application on induced resistance against citrus canker disease in lime plants. **Journal of Plant Protection Research**, v.54, n. 2, p.1-6, 2014.

KEERIO, A.; NIZAMANI, Z. A.; HUSSAIN, S.; RAFIQ, M.; IQBAL, S.; KEERIO, A. Efficacy of some chemical fungicides against *Fusarium* wilt of sunflower in-vitro condition cause by *Fusarium oxysporum*. **International Journal of Botany Studies**, v. 2, n. 5, p. 80-85, 2017.

KHOURY, C. K.; CASTANEDA-ALVAREZ, N. P.; ACHICANOY, H. R.; SOSA, C. C.; BERNAU, V.; KASSA, M. T.; NORTON, S. L.; MAESEN, L. J. G. V. D.; UPADHYAYA, H. D.; RAMIREZ-VILLEGAS, J.; JARVIS, A.; STRUIK, P. C. Crop wild relatives of pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]: distributions, ex situ conservation status, and potential genetic resources for abiotic stress tolerance. **Biological Conservation**, v. 184, p. 259-270, 2015.

KOCIRA, S.; SZPARAGA, A.; HARA, P.; TREDER, K.; DINFURA, P.; BARTO, P.; FILIP, M. Biochemical and economical effect of application biostimulants containing seaweed extracts and amino acids as an element of agroecological management of bean cultivation. **Nature Research**, v. 10, p. 1-16, 2020.

LAZAROTTO, M. **Identificacao e caracterizacao de *Fusarium spp.* e *Pestalotiopsis spp.* associados a *Carya illinoensis* no Rio Grande do Sul.** 2013. 156f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

LORENZETTI, E.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; PORTZ, R. L. Indução de resistência à *Macrophomina phaseolina* em soja tratada com extrato de alecrim. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.1, p. 45-50, 2018.

MAHMOUDI, S.; MASOOMI, A.; AHMADIKIA, K.; TABATABAEI, S. A.; SOLEIMANI, S.; REZAIIE, S.; GHAVECHIAN, H.; BANAFSHEAFSHAN, A. Fungal keratitis : an overview of clinical and laboratory aspects. **Mycoses**, v.61, n. 12, p. 916-930, 2018.

MAISURIA, V. B.; GOHEL, V.; MEHTA, A. N.; PATEL, R. R.; CHHATPAR, H. S. Biological control of *Fusarium* wilt of pigeonpea by *Pantoea dispersa*, a field assessment. **Annals of Microbiology**, v.58, n.3, p.411-419, 2008.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas.** Piracicaba: FEALQ. p. 660. 2015.

MEDICI, L. O.; AZEVEDO, R. A.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. The influence of nitrogen supply on antioxidant enzymes in plant roots. **Functional Plant Biology**, v.3, n.1, p.1-9, 2004.

MUNIZ, M. F. B.; GONÇALVES, N.; GARCIA, D. C.; KULCZYNSKI, S. M. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n.2, p.144-149, 2004.

NELSON, P. E. History of *Fusarium* systematics. **Phytopathology**, v.81, n.9, p.1045-1048, 1991.

NOZAKI, M. H.; KLIEMANN, O. A. Avaliação do uso de fosfito no controle da antracnose em feijoeiro comum. **Agrarian**, v.9, n.31, p.19-25, 2016.

OLIVEIRA, J. S. B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONATO, C. M.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Homeopatas de óleos essenciais sobre a germinação de esporos e indução de fitoalexinas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 208-215, 2017.

OWOLABI, L. O.; YUPANQUI, C. T.; SIRIPONGVUTIKORN, S. Enhancing secondary metabolites (emphasis on phenolics and antioxidants) in plants through elicitation and metabolomics. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 17, p. 411-420, 2018.

PANDEY, A. K.; PALNI, U. T.; TRIPATHI, N. N. Evaluation of *Clausena pentaphylla* (Roxb.)DC oil as a fungitoxicant against storage mycoflora of pigeon pea seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.93, n.7, p. 1680-1686, 2013.

PASCHOLATI, S. F.; DALIO, R. J. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de**

Fitopatologia: Princípios e Conceitos. Ouro Fino: Agronômica Ceres Ltda, 2018, cap. 35, p. 424-449.

PEDRA, W. N.; PEDROTTI, A.; SILVA, T. O.; MACEDO, F. L.; GONZAGA, M. I. S. Estoques de carbono e nitrogênio sob diferentes condições de manejo de um Argissolo Vermelho Amarelo, cultivado com milho doce nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6, p. 2075-2090, 2012.

PENTEADO, S. R. **Adubos Verdes e produção de biomassa - Melhoria e recuperação dos solos.** Campinas: Livros Via orgânica, 2010. 172 p.

QUEIROZ, S. B.; STANGARLIN, J. R.; JÚNIOR, J. B. D.; RÖDER, C.; CARVALHO, J. C.; ROSA, W. B. AÇÃO *in vitro* DE QUELATOS AMINOÁCIDO-METAIS SOBRE *Colletotrichum lindemuthianum* E *Xanthomonas axonopodispv. Phaseoli*. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.18, n.1, p.82-87, 2019.

RAI, V. K. Role of amino acids in plant responses to stress. **Biologia Plantarum**, v. 45, n. 4, p. 481-487, 2002.

RAYOL, B. P.; ALVINO-RAYOL, F. L. Uso de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) para adubação verde e manejo agroecológico de plantas espontâneas em reflorestamento no estado do Pará. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.7, n.1, p.104-110, 2012.

SANTOS, J. P.; BORGES, T. S.; SILVA, N. T.; ALCANTRA, E.; REZENDE, R. M.; FREITAS, A. S. Efeito de bioestimulante no desenvolvimento do feijoeiro. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v.15, n.1, p.815-824, 2017.

SANTOS, L. A.; FARIA, C. M. D. R.; MAREK, J.; DUHATSCHEK, E.; MARTINICHEN, D. Radioterapia e termoterapia como tratamento de sementes de soja. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v.9, n.2, p. 37-44, 2016.

SANTOS, V. M.; MELO, A. V.; CARDOSO, D. P.; SILVA, A. R.; BENÍCIO, L. P. F.; FERREIRA, E. A. Desenvolvimento de plantas de soja em função de bioestimulantes em condições de adubação fosfatada. **Bioscience Journal**, v.30, n.4, p.1087-1094, 2014.

SAROJ, A.; PRAGADHEESH, V. S.; YADAV, A.; SINGH, S. C.; SAMAD, A.; NEGI, A. S.; CHANOTIYA, C. S. Anti-phytopathogenic activity of *Syzygium cumini* essential oil, hydrocarbon fractions and its novel constituents. **Crops and Products**, v. 74, p. 327-335, 2015.

SEIFFERT, N. F.; THIAGO, L. R. L.S. **Legumineira cultura forrageira para produção de proteína: guandu (*Cajanus cajan*).** EMBRAPA-CNPQC, (Circular Técnica 13), 1983. 52p.

SILVA, B. M. C.; OLIVEIRA, D. E. C.; FARIAS, B. L.; COSTA, V. S.; FERREIRA, V. B.; NUNES, M. R. G.; RESENDE, O. Influência da secagem na qualidade fisiológica e coloração de sementes de feijão guandu. **Research, Society and Development**, v. 9, n.7, p. 1-12, 2020.

SILVA, R. A. et al. Morfologia e produção de feijão comum em função da aplicação de bioestimulante. **Scientia Plena**, v. 12, n. 10, p. 1-8, 2016.

SOUSA, D. B. **ESTUDO DO POTENCIAL QUÍMICO DE *Fusarium udum*.** 2017. 139 f. Dissertação (Mestrado em química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

SOUTO, J. S.; OLIVEIRA, F. T.; GOMES, M. M. S.; NASCIMENTO, J. P.; SOUTO, P. C. Efeito da aplicação de fósforo no desenvolvimento de plantas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). **Revista Verde**, v.4, n.1, p.135-140, 2009.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWANESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3^a ed. Porto Alegre: Artmed. p. 309-332, 2004.

TEXEIRA, W. F.; FAGAN, E. B.; SOARES, L. H.; UMBURANAS, R. C.; REICHARDT, K.; NETO, D. D. Foliar and Seed Application of Amino Acids Affects the Antioxidant Metabolism of the Soybean Crop. **Frontiers in Plant Science**, v.8, p. 1-14, 2017.

THRANE, Ulf. *Fusarium*. In: **Encyclopedia of Food Microbiology**. Elsevier, p. 76-81, 2014.

VAN LOON, L. C.; REP, M.; PIETERSE, C. M. J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annu.Rev. Phytopathol**, v. 44, n. 1, p. 135-162, 2006.

WANG, J.; LIU, Z.; WANG, Y.; CHENG, W.; MOU, H. Production of a water soluble fertilizer containing amino acids by solid-state fermentation of soybean meal and evaluation of its efficacy on the rapeseed growth. **Journal of Biotechnology**. v. 187, p. 34-42, 2014.

CAPÍTULO II

QUALIDADE DE SEMENTES DE FEIJÃO GUANDU COM USO DE BIOESTIMULANTES ELICITORES DE RESISTÊNCIA

DIAS, F.H.C. **Qualidade de sementes de feijão guandu com uso de bioestimulantes elicitores de resistência.** Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2021.

RESUMO: O feijão guandu é uma leguminosa forrageira com alto teor proteico, utilizado principalmente em práticas de conservação do solo. Sua propagação é realizada a partir de sementes, assim, a qualidade das mesmas é fundamental para garantir uma boa produção. Um dos entraves ao pleno desenvolvimento do feijão guandu é a presença de patógenos em sementes, que podem causar grandes prejuízos em campo e nas sementes produzidas. Para incrementar a qualidade das mesmas e reduzir o uso de agrotóxicos, a indução de resistência tem se constituído em uma ferramenta promissora no manejo de doenças de plantas, aumentando o vigor de sementes e plântulas no campo. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência de elicitores no controle de patógenos associados às sementes de feijão guandu, bem como a qualidade fisiológica das sementes tratadas. As sementes de feijão guandu foram oriundas do município de Cuité, Paraíba e foram tratadas com T₀ = testemunha (água destilada esterilizada); T₁ = Captana; T₂ = AgroMos[®]; T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder; T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg + B; T₅ = Liqui-Plex[®] Fast; T₆ = Folha Top[®] Aminoagro; T₇ = Master Potássio[®]; T₈ = Master RR Ultra[®]; T₉ = Viusid[®] Agro. Foram realizados os testes de sanidade, germinação e emergência. A ação dos bioestimulantes sobre a incidência de fungos foi avaliada pelo método *Blotter test* (BRASIL, 2009), por um período de sete dias. Para os testes de germinação e emergência foram utilizadas 200 sementes por tratamento, distribuídas em quatro repetições de 50 sementes. No teste de germinação, as sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel Germitest[®] e incubadas em câmara de germinação do tipo B.O.D. O teste de emergência foi conduzido em casa de vegetação, em bandejas plásticas contendo substrato Mecplant[®]. Verificou-se que *Aspergillus* sp., *A. niger* e *Cladosporium* sp., proporcionaram maiores percentuais de incidência nas sementes, apresentando diferença entre os tratamentos. A maior ocorrência de *Aspergillus* sp. (21,5%) foi observada no tratamento T5 diferindo estatisticamente dos tratamentos T1 e T2. Os tratamentos T5, T7 e T9 mostraram-se eficientes na redução de *A. niger*. Em relação à incidência de *Cladosporium* sp., observou-se que os tratamentos T5, T6, T7, T8 e T9 foram eficientes, provocando uma redução significativa do patógeno quando comparados à testemunha (12,5%). Os tratamentos T7, T8 e T9 proporcionaram resultados promissores para as variáveis de germinação, primeira contagem, sementes mortas e índice de velocidade de germinação. No teste de emergência observou-se que a maioria dos tratamentos não interferiram nas variáveis avaliadas, exceto os tratamentos T4 e T7. Os elicitores utilizados são eficientes na redução de incidência de *A. niger* e *Cladosporium* sp. em sementes de feijão guandu. Os tratamentos T7, T8 e T9 se destacam proporcionando incrementos nas variáveis fisiológicas analisadas.

Palavras-chave: *cajanus cajan*; indutores de resistência; patologia de sementes.

DIAS, F.H.C. **Pigeonpea seed quality using resistance eliciting biostimulants**. Dissertação (Master in Agronomy) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2021.

ABSTRACT: Pigeon pea is a forage legume with high protein content, used mainly in soil conservation practices. Its propagation is carried out from seeds, so their quality is essential to ensure good production. One of the obstacles to the full development of pigeon pea is the presence of pathogens in seeds, which can cause great damage in the field and in the seeds produced. To increase their quality and reduce the use of pesticides, the induction of resistance has been a promising tool in the management of plant diseases, increasing the vigor of seeds and seedlings in the field. The objective of this work was to evaluate the efficiency of elicitors in the control of pathogens associated with pigeon pea seeds, as well as the physiological quality of treated seeds. Pigeon pea seeds came from the municipality of Cuité, Paraíba and were treated with T0 = control (sterilized distilled water); T1 = Captana; T2 = AgroMos®; T3 = Liqui-Plex® Bonder; T4 = Liqui-Plex® CaMg + B; T5 = Liqui-Plex® Fast; T6 = Top® Aminoagro Sheet; T7 = Master Potassium®; T8 = Master RR Ultra®; T9 = Visid® Agro. Sanity, germination and emergence tests were performed. The action of biostimulants on the incidence of fungi was evaluated by the Blotter test method (BRASIL, 2009), for a period of seven days. For the germination and emergence tests, 200 seeds per treatment were used, distributed in four replicates of 50 seeds. In the germination test, the seeds were distributed on two sheets of Germitest® paper and incubated in a germination chamber of the B.O.D. The emergence test was conducted in a greenhouse, in plastic trays containing Mecplant® substrate. It was found that *Aspergillus* sp., *A. niger* and *Cladosporium* sp., provided higher percentages of incidence in the seeds, showing difference between treatments. The highest occurrence of *Aspergillus* sp. (21.5%) was observed in treatment T5, differing statistically from treatments T1 and T2. Treatments T5, T7 and T9 proved to be efficient in reducing *A. niger*. Regarding the incidence of *Cladosporium* sp., it was observed that treatments T5, T6, T7, T8 and T9 were efficient, causing a significant reduction of the pathogen when compared to the control (12.5%). Treatments T7, T8 and T9 provided promising results for the variables of germination, first count, dead seeds and germination speed index. In the emergency test it was observed that most treatments did not interfere in the variables evaluated, except for treatments T4 and T7. The elicitors used are efficient in reducing the incidence of *A. niger* and *Cladosporium* sp. in pigeon pea seeds. Treatments T7, T8 and T9 stand out, providing increments in the analyzed physiological variables.

Keywords: *cajanus cajan*; resistance Inducers; seed pathology.

1. INTRODUÇÃO

O feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mill.) é uma leguminosa forrageira com alto teor proteico na sua composição, cultivada em regiões tropicais e subtropicais, pois apresenta potencial de resistência aos estresses bióticos e abióticos presentes nesses ambientes (SAXENA et al., 2018; BEHERA et al., 2020). Essa leguminosa é utilizada principalmente em práticas de conservação do solo, aumentando o teor de matéria orgânica, realizando a ciclagem de nutrientes e cobertura do solo, prevenindo processos erosivos e na alimentação humana e animal (BONFIM-SILVA et al., 2016).

Existe uma carência de estudos sobre os patógenos associados às sementes de forragens tropicais. Esses podem acarretar danos na germinação e na produção das culturas (SILVA et al., 2020). No feijão guandu, assim como na maioria das espécies cultivadas, a semente é o principal método de disseminação de patógenos, cuja presença pode causar redução na produtividade, por conseguinte a introdução desses em novas áreas (FLÁVIO et al., 2014).

Dentre os gêneros fúngicos associados às sementes de feijão guandu, destacam-se *Penicillium* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Rhizopus* sp., *Curvularia lunata*, *Rhizoctonia* sp., *Aspergillus* sp. (CHAUDHARI et al., 2017; BLANCO et al., 2019).

A principal forma de controle de patógenos em sementes é com o uso de fungicidas químicos sintéticos. Assim, o uso de elicitores de resistência bióticos e abióticos no manejo de doenças é uma forma de controle alternativo que proporciona a ativação dos mecanismos de defesa das plantas (ALENCAR et al., 2020), além de reduzir o impacto ambiental causado por esses produtos. Os indutores abióticos são moléculas sintéticas que emitem um sinal para a planta, provocando a ativação dos genes relacionados à defesa; enquanto os bióticos são organismos vivos ou provenientes dos mesmos, que causam uma ação sistêmica ou localizada, ativando o processo de defesa da planta (ALVES et al., 2021).

A aplicação de elicitores à base de aminoácidos tem sido utilizada no intuito de melhorar o vigor de sementes e plântulas no campo, assim como na indução de resistência através da ativação do metabolismo fisiológico, exercendo ação anti estresse (DÖRR et al., 2018) e consequentemente incrementado os mecanismos de defesa das plantas.

Face ao exposto, o presente trabalho tem como objetivo determinar a eficiência de elicitores de resistência no manejo de patógenos associados às sementes de feijão guandu, bem como a qualidade das sementes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia (LAFIT), do Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais (CCA), do Centro de Ciências Agrárias, na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Areia, Paraíba, Brasil.

As sementes de feijão guandu foram oriundas do município de Cuité, Paraíba, Brasil (06° 28' 53,94" S e 36° 08' 58,87" W), coletadas no período do mês de setembro de 2020 e armazenadas.

2.2. Elicitores utilizados para indução de resistência em feijão guandu

Para os tratamentos utilizados foram selecionados produtos que apresentam aminoácidos na sua composição.

Tabela 1. Descrição dos indutores de resistência utilizados no tratamento de sementes de feijão guandu (*Cajanus cajan*).

Produto comercial	Composição
AgroMos [®]	Sulfato de cobre, sulfato de zinco e complexo de aminoácidos
Liqui-Plex [®] Bonder	Complexo de aminoácidos
Liqui-Plex [®] CaMg+B	Cálcio (Ca); Magnésio (Mg); Boro (B) e complexo de aminoácidos
Liqui-Plex [®] Fast	Fósforo (P), Nitrogênio (N) e complexo de aminoácidos
Folha Top [®] Aminoagro	Carbono Orgânico, (N), potássio(K), Manganês(Mn), Zinco(Zn) e aminoácidos
Master Potássio [®]	Potássio (k) e aminoácidos
Master RR Ultra [®]	Manganês (Mn) e aminoácidos
Viusid [®]	Nitrogênio e aminoácidos

As sementes ficaram imersas por 5 minutos nos tratamentos diluídos em 100 mL de água destilada esterilizada: T₀ = testemunha: água destilada esterilizada (ADE); T₁ = fungicida (Captana na dosagem de 240 g 100 kg⁻¹ de sementes); T₂ = AgroMos[®] (300 mL/ 100 L de água); T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder (150 mL /100 L de água); T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B (150 mL/100 L de água); T₅ = Liqui-Plex[®] Fast (150 mL /100 L de água); T₆ = Folha Top[®] Aminoagro (0,5 L/ ha⁻¹); T₇ = Master Potássio[®] (3 L/ ha⁻¹); T₈ = Master RR Ultra[®] (0,5 L/ha⁻¹); T₉ = Viusid[®] Agro (1 mL / 5 L de água).

2.3. Avaliação da qualidade sanitária de sementes de feijão guandu

As sementes foram desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 1% durante três minutos e enxaguadas com água destilada esterilizada (ADE) antes da aplicação dos tratamentos para realização dos testes de qualidade sanitária e fisiológica. A ação dos elicitores sobre a incidência de fungos foi avaliada pelo método *Blotter test* (BRASIL, 2009), utilizando 200 sementes por tratamento, distribuídas em 20 repetições de 10 sementes, colocadas individualmente em placas de Petri (90 x 15 mm) sobre uma dupla camada de papel filtro esterilizada, umedecido com ADE e mantidas em incubação à 25 ± 3 °C por um período de sete dias. Utilizou-se microscópio estereoscópico óptico e literatura especializada (SEIFERT et al., 2011), para identificar e determinar a incidência dos fungos associados às sementes, com resultados expressos em percentual de ocorrência dos fungos.

2.4. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijão guandu

Para avaliação da qualidade fisiológica das sementes, realizou-se os testes de germinação e emergência (BRASIL, 2009). Foram utilizadas 200 sementes por tratamento, distribuídas em quatro repetições de 50 sementes. No teste de germinação, as sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel Germitest[®] cobertas com uma terceira folha e organizadas em forma de rolos. O papel foi previamente esterilizado em autoclave a 121 °C por 30 minutos e umedecido com ADE na proporção de 2,5 vezes a sua massa seca. Em seguida, as folhas foram dobradas em formato de rolo e mantidas em sacos plástico, visando a diminuição da perda da água por evaporação, e incubadas em câmara de germinação do tipo B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*), regulada a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de doze horas.

As avaliações foram realizadas diariamente, do 4º ao 10º dia após a semeadura, conforme os critérios estabelecidos por Brasil (2009), contabilizando o número de plântulas normais (raiz e parte aérea bem desenvolvida) no quarto dia (primeira contagem) e ao décimo dia após a instalação, considerando-se também o número de sementes mortas, sendo os resultados expressos em porcentagem. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi avaliado conjuntamente com o teste de germinação, efetuando-se contagens diárias das plântulas normais de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962).

$$IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$$

Onde: IVG = índice de velocidade de germinação;

G1, G2 e Gn = número de sementes germinadas no primeiro, segundo e último dia;

N1, N2 e Nn = número de dias decorridos da semente à primeira, segunda e última contagem.

O teste de emergência foi conduzido em ambiente protegido, no qual as sementes foram semeadas em bandejas plásticas de polipropileno (43 x 335 x 664 mm) contendo substrato Mecplant[®] a uma profundidade de três centímetros, sendo umedecidas diariamente. Cada bandeja continha 200 células as quais foram divididas em quatro partes, para formar quatro repetições com 50 sementes por tratamento.

Foram realizadas contagens diárias do número de plântulas normais emergidas, até a estabilização da emergência, que ocorreu ao décimo dia após a semente. A primeira contagem de emergência foi determinada com base na percentagem de plântulas normais no quarto dia após a instalação do ensaio, sendo os resultados expressos em percentagem (BRASIL, 2009). O índice de velocidade de emergência (IVE) foi determinado pela contagem diária das plântulas emergidas até o décimo dia e o índice determinado de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962).

O comprimento e massa seca das plântulas foram analisados para ambos os testes (germinação e emergência) individualmente. Com o auxílio de uma régua graduada em centímetros, foi determinado o comprimento de parte aérea e raiz de plântulas normais, sendo os resultados expressos em cm/plântula. O conteúdo de matéria seca da parte aérea (MSA) e raiz (MSR) foram obtidos ao final da avaliação, ou seja, após o período de dez dias. A parte aérea e a raiz das plântulas foram acondicionadas separadamente em sacos de papel Kraft e colocadas para secar em estufa regulada a 65 °C até atingir peso constante (48 h). Após esse período as amostras foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g e os resultados expressos em g/plântula.

2.5. Delineamento e análise estatística

As sementes foram submetidas aos testes de sanidade, germinação e emergência em delineamento inteiramente casualizado. Os dados que atenderam aos pressupostos para análise paramétrica foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade. Aqueles que não atenderam aos pressupostos para análise paramétrica foram analisados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0,05$

de significância) e ajustamento para testes múltiplos dos p-valores por meio do método de Bonferroni. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software R (R CORE TEAM, 2020).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise sanitária das sementes de feijão guandu (Figura 1) foram detectados oito gêneros de fungos: *Cladosporium* sp. (22,5%), *Aspergillus* sp. (21,5%), *A. niger* (18,5%), *Rhizopus* sp. (4,0%), *Alternaria* sp. (1,5%), *Fusarium* sp. (1,5%), *Rhizoctonia* sp. (1,0%), *Curvularia* sp. (0,5%) e *Penicillium* sp. (0,5%).

Figura 1. Ocorrência de fungos em sementes de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de Cuité - PB.

Ao analisar os resultados do teste de sanidade (Tabela 2) verificou-se que *Aspergillus* sp., *A. niger* e *Cladosporium* sp., proporcionaram maiores percentuais de incidência nas sementes, apresentado diferença entre os tratamentos. A maior ocorrência de *Aspergillus* sp. (21,5%) foi observada no tratamento T₅ (Liqui-Plex[®] Fast) diferindo estatisticamente dos tratamentos T₁ (Captana) e T₂ (AgroMos[®]) (Tabela 1).

Avaliando a qualidade sanitária de sementes de leguminosas oriundas de regiões do Sudão, Abdulwehab al. (2015) relataram a ocorrência de *Alternaria alternata*, *A. tenuis*, *Aureobasidium pullulans*, *Curvularia brachyspora*, *C. pallescens*, *Drechslera rostrata* e *Fusarium solani* em sementes de feijão guandu.

Tabela 2. Incidência de fungos associados às sementes crioulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) tratadas com elicitores de resistência.

Tratamentos	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Cladosporium</i> sp.
	-----Incidência (%)-----		
T ₀ : Testemunha (ADE)	8,0 abc	17,0 abc	12,5 a
T ₁ : Captana	2,5 c	2,5 d	3,0 bc
T ₂ : AgroMos [®]	5,5 bc	12,5 abc	13,5 ab
T ₃ : Liqui-Plex [®] Bonder	10,0 abc	15,0 ab	15,0 a
T ₄ : Liqui-Plex [®] CaMg+B	11,0 abc	18,5 a	22,5 a
T ₅ : Liqui-Plex [®] Fast	21,5 a	3,0 d	0,5 c
T ₆ : Folha Top [®] Aminoagro	16,0 ab	5,0 cd	6,0 bc
T ₇ : Master Potássio [®]	10,5 abc	2,5 d	0,0 c
T ₈ : Master RR Ultra [®]	18,0 abc	5,0 cd	0,0 c
T ₉ : Viusid [®] Agro	13,5 abc	2,5 d	0,0 c
Valor-H	28,08 [*]	55,80 [*]	90,74 [*]

Testemunha (ADE – água destilada esterilizada) H-crítico = 16,91; * = significativo (H > H-crítico) pelo teste de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0,05$ de significância). Valores seguidos por letras distintas na coluna diferem estatisticamente entre si.

Os tratamentos T₅ (Liqui-Plex[®] Fast), T₇ (Master Potássio[®]) e T₉ (Viusid[®] Agro) mostraram-se eficientes na redução de *A. niger*, apresentando valores incidentes de 3, 2,5 e 2,5%, respectivamente, não diferindo do fungicida T₁ (2,5%). Em relação à incidência de *Cladosporium* sp., observou-se que os tratamentos T₅, T₆, T₇, T₈ e T₉ foram eficientes, provocando uma redução significativa do patógeno quando comparados à testemunha (12,5%).

Os fungos do gênero *Aspergillus* sp. são considerados fungos de armazenamento, responsáveis por causarem alguns danos nas sementes como deterioração e lesões, reduzindo o potencial germinativo das sementes e vigor das plântulas, além disso, em algumas espécies podem produzir micotoxinas altamente tóxicas aos seres humanos, plantas e animais (REVERBERI et al., 2010; CARVALHO et al., 2019). *Aspergillus* sp. se associa às sementes durante a maturação e após a colheita, atuando quando a umidade relativa do ar supera 80%, e o teor de água nas sementes é superior a 14% (MARCOS FILHO, 2015).

A ocorrência de *Cladosporium* sp. também está associada à deterioração de sementes em condições de armazenamento inadequado, é considerado um fungo patogênico e pode ser transmitido das sementes para as plântulas (GUIMARÃES; CARVALHO, 2014; LIMA et al., 2020).

Em estudo com o uso de elicitor à base de aminoácidos (PT-4-0[®]) na qualidade sanitária de sementes de soja (*Glycine max*), Ludwig et al. (2011) observaram que após a

aplicação do produto nas sementes, constatarem valores incidentes inferiores de *Rhizoctonia* sp., *Colletotrichum* sp., *Phomopsis* sp., *Alternaria* sp., e *Cercospora* sp. quando comparados com a testemunha, corroborando com os resultados do presente trabalho.

Os tratamentos T₇ (Master Potássio[®]), T₈ (Master RR Ultra[®]) e T₉ (Viusid[®] Agro) proporcionaram resultados promissores para as variáveis de germinação, primeira contagem, sementes mortas e índice de velocidade de germinação, em relação aos demais, não diferindo do tratamento químico (Figura 2).

Figura 2. Germinação (GE), primeira contagem de germinação (PCG), sementes mortas (SM) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.) tratadas com elicitores de resistência: T₀ = Testemunha (água destilada esterilizada), T₁ = Captana, T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Com a aplicação do Viusid[®] Agro na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), Calzada et al. (2017) observaram um incremento na germinação quando comparado com o tratamento controle. Esses resultados podem ser considerados positivos, pois os elicitores não causaram danos na qualidade fisiológica das sementes, o que poderia ser um fator limitante para o controle de patógenos.

Quanto ao comprimento de raiz (CPR), parte aérea (CPA) e plântula (CPL) os tratamentos que se destacaram foram T₇, T₈ e T₉ (Figura 3), mostrando-se tão eficientes quanto o fungicida. Os tratamentos T₈ e T₉ também se destacaram em relação à massa seca de raiz (MSR) com valores de 0,061 g plântula⁻¹ para ambos os tratamentos, massa seca da parte aérea (MSA) com 0,067 e 0,064 g plântula⁻¹ e massa seca de plântula (MSP) com 0,129 e 0,125 g plântula⁻¹, respectivamente. Os resultados obtidos podem ser relacionados com os observados nas variáveis de germinação com maior potencial fisiológico.

Figura 3. Comprimento de raiz (CPR), parte aérea (CPA) e plântula (CPL) e massa seca de raiz (MSR), parte aérea (MSA) e plântula (MSP) em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.) tratadas com elicitores de resistência. Tratamentos: T₀ = Testemunha (água destilada esterilizada), T₁ = Captana, T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p ≤ 0,05).

Estudos evidenciam a potencialidade de uso dos elicitores no controle de patógenos em sementes de feijão guandu, favorecem a eficiência dos processos metabólicos das sementes, auxiliando diretamente nas vias metabólicas em resposta as condições adversas, possibilitando adaptações às mudanças ambientais (TAVARES et al., 2014).

Os possíveis benefícios alcançados com a aplicação de bioestimulantes com aminoácidos em sementes estão associados aos processos metabólicos na planta, estimulando a síntese ou aumentando a atividade dos fitormônios, melhora na germinação, produção de plantas com sistema radicular vigoroso, assim, melhorando a translocação e utilização de nutrientes, determinando a quantidade e qualidade da produção, com plantas mais vigorosas e firmes, enchimento mais uniforme de grãos e uma produtividade elevada (LUDWIG et al., 2011; KOCIRA et al., 2018).

Ao analisar os resultados do teste de emergência (Figura 4) observou-se que a maioria dos tratamentos não interferiram nas variáveis avaliadas, exceto os tratamentos T₄ (Liqui-Plex[®] CaMg+B) e T₇(Master Potássio[®]) com percentual de plântulas emersas abaixo de 90% (Figura 1A), quando comparados com os demais tratamentos utilizados. Resultado semelhante foi obtido por Dörr et al. (2020) na aplicação de aminoácidos em sementes de trigo (*Triticum aestivum*), que relataram que não houve influência significativa na qualidade fisiológica das sementes.

Figura 4. Emergência (EM), primeira contagem de emergência (PCE) e índice de velocidade de emergência (IVE) em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.) tratadas com elicitores de resistência. Tratamentos: T0 = Testemunha (água destilada esterilizada), T1 = Captana, T2 = AgroMos[®], T3 = Liqui-Plex[®] Bonder, T4 = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T5 = Liqui-Plex[®] Fast, T6 = Folha Top[®] Aminoagro, T7 = Master Potássio[®], T8 = Master RR Ultra[®] e T9 = Viused[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Para a primeira contagem de emergência (Figura 4B) os tratamentos T₁ (86%), T₂ (89%) e T₅ (91%) foram os mais eficientes, proporcionando maiores percentuais de plântulas emergidas, não diferindo estatisticamente da testemunha (88%). Com relação ao índice de velocidade de emergência (IVE) (Figura 4C), observou-se que T₂ (AgroMos[®]) proporcionou maior índice de velocidade (24,65) em relação aos demais, embora sem diferir da testemunha.

Esses resultados são importantes de serem relatados, pois a uniformidade e a rapidez de emergência de plântulas são componentes importantes dentro do conceito de vigor, mesmo sendo as diferenças de vigor facilmente perceptíveis (GUEDES et al., 2013).

Essa uniformidade é considerada um sinal de sementes vigorosas e, segundo Zhang et al. (2015) a qualidade fisiológica deve ser medida por outro conceito, o vigor, pode ser mais assertivo quando analisado com a medição da taxa de germinação, uniformidade e crescimento.

A desuniformidade da emergência das plantas resulta em perdas de rendimento da cultura (TAO et al., 2017). Uma reduzida competição intraespecífica devido à uniformidade de emergência de plântulas, provocando desempenho superior da comunidade de plantas pelo melhor aproveitamento dos recursos do ambiente (EBONE et al., 2020).

Em relação às variáveis de comprimento de raiz (CPR), parte aérea (CPA), plântula (CPL) e massa seca de raiz (MSR), parte aérea (MSA) e plântula (MSP) no teste de emergência, não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados. Portanto, os tratamentos não são recomendados para a utilização no intuito de estimular o tamanho das plantas. Resultado semelhante foi observado por Vanzolini; Silveira (2009) em estudo sobre o desempenho inicial de sementes de milho tratadas com produtos á base de aminoácidos.

4. CONCLUSÃO

Os elicitores utilizados são eficientes na redução de incidência de *A. niger* e *Cladosporium* sp. em sementes de feijão guandu. Os tratamentos T₇(Master Potássio[®]), T₈ (Master RR Ultra[®]) e T₉ (Viusid[®] Agro) se destacam com os melhores resultados nas variáveis fisiológicas analisadas.

5. REFERÊNCIAS

- ABDULWEHAB, A. S.; EL-NAGERABI, S. A. F.; ELSHAFIE, A. E. Leguminicolous fungi associated with some seeds of Sudanese legumes. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v. 16, n. 2, p. 269-280, 2015.
- ALENCAR, M. S. R.; SOLINO, A. J. S.; OLIVEIRA, J. S. B.; PASCHOLATI, S. F.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Induction of defense mechanisms in tomato plants by saprobic fungi filtrates against early blight diase. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 3, p. 671-678, 2020.
- ALVES, J. V. S.; COELHO, M. P.; BERTAN, F. L.; SILVA, D. C.; SILVA, V. C.; CHIAMULERA, M. T.; CARVALHO, I. F.; SILVA, C. A.; ARAÚJO, D. V. Indução de resistência a *Colletotrichum* sp. em *Heliconia psittacorum* x *Spartho circinata* cv. Golden Torch cultivada em ambiente sombreado e pleno sol. **Summa Phytopathologica**, v. 46, n. 4, p. 320-326, 2021.
- BEHERA, S. K.; SHUKLA, A. K.; TIWARI, P. K.; TRIPATHI, A.; SINGH, P.; TRIVEDI, V.; PATRA, A. K.; DAS, S. Classification of Pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) Genotypes for Zinc Efficiency. **Plants**, v. 9, n. 8, p. 1-14, 2020.
- BLANCO, N. H. M.; DURANTE, L. G. Y.; SALES, F. M. S.; GRAICHEN, F. A. S. Qualidade sanitária de sementes de adubos verdes. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 17, n. 1, p. 1-6, 2019.
- BONFIM-SILVA, E.M.; OLIVEIRA, J. R.; ANICESIO, E. C.; SILVA, T. J. A. Teor de clorofila e desenvolvimento de feijão guandu adubado com fosfato natural reativo em Latossolo do Cerrado. **Revista Agrarian**, v.9, n.33, p. 248-253, 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA, 2009. 395p.
- CALZADA, K. P.; FERNÁNDEZ, J. C. R.; SOTOLONGO, M. S.; VICIEDO, D. O.; EXPÓSITO, C. D. V.; HERNÁNDEZ, R. D. Effects of a growth promoter on bean (*Phaseolus vulgaris* L.) crops in Sancti Spíritus province, Cuba. **Acta Agronomica**, v. 66, n. 3, p. 360-366, 2017.
- CARVALHO, B. L.; SOUZA, E. P.; ANJOS, L. V. S.; NAKADA-FREITAS, P. G. TRATAMENTO DE SEMENTES DE CEBOLA COM EXTRATO DE PRÓPOLIS E *Plectranthus amboinicus* NO CONTROLE DE *Aspergillus* sp.. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v.13, n.1, p.12-18, 2019.
- CHAUDHARI, A.; SHARMA, H.; JEHANI, M.; SHARMA, J. K. Seed Mycoflora Associated with Pigeon pea [*Cajanus cajan*(L.) Mill sp.], their Significance and the Management. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 567-575, 2017.
- DÖRR, C. S.; ALMEIDA, T. L.; GULARTE, J. A.; ROSA, M. M.; CAVALHEIRO, H. M. F.; PANOZZO, L.E. Desempenho de lotes de sementes de trigo de diferentes níveis de vigor

tratados com aminoácidos. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.4, p.20376-20390, 2020.

DÖRR, C. S.; ALMEIDA, T. L.; PANOZZO, L. E.; SCHUCH, L. O. B. Treatment of soybean seeds of different levels of physiological quality with amino acids. **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 4, p. 407-414, 2018.

EBONE, L. A.; CARVEZAN, A.; TAGLIARI, A.; CHIOMENTO, J. L. T.; SILVEIRA, D. C.; CHAVARRIA, G. Soybean seed vigor: uniformity and growth as key factors to improve yield. **Agronomy**, v.10, n.4, p.1-15, 2020.

FLÁVIO, N. S. D. S.; SALES, N. L. P.; AQUINO, C. F.; SOARES, E. P. S.; AQUINO, L. F. S.; CATÃO, H. C. R. M. Health and physiological quality of sorghum seeds treated with aqueous extracts and essential oils. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.1, p.7-20, 2014.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; COSTA, E. M. T.; MOURA, S. S. S.; SILVA, R. S.; CRUZ, F. R. S. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Bioscience Journal**, v.29, n.4, p.859-866, 2013.

GUIMARÃES, G. R.; CARVALHO, D. D. C. Incidência e caracterização morfológica de *Cladosporium herbarum* em feijão comum cv. 'Pérola'. **Revista Brasileira de Biociências**, v.12, n.3, p.137-140, 2014.

KOCIRA, S.; SZPARAGA, A.; KOCIRA, A.; CZERWINSKA, E.; WÓJTOWICZ, A.; BRONOWICKA-MIELNICZUK, U.; KOSZEL, M.; FINDURA, P. Modeling biometric traits, yield and nutritional and antioxidant properties of seeds of three soybean cultivars through the application of biostimulant containing seaweed and amino acids. **Frontiers in plant Science**, v. 9, p. 1-18, 2018.

LIMA, C. B.; BUENO, J. T.; JÚNIOR, J. C.A.; SHINOZAKI, G. A. Ocorrência de microrganismos e sua relação com a qualidade fisiológica de sementes de alface. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p.90053-90067, 2020.

LUDWIG, M. P.; FILHO, O. A. L.; BAUDET, L.; DUTRA, L. M. C.; AVELAR, S. A. G.; CRIZEL, R. L. Qualidade de sementes de soja armazenadas após recobrimento com aminoácido, polímero, fungicida e inseticida. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n. 3, p.395-406, 2011.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2a ed. Londrina, BR: ABRATES. 2015. 660 p.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria, 2020.

SAXENA, R. K.; PATEL, K.; KUMAR, C. V. S.; TYAGI, K.; SAXENA, K. B.; VARSHNEY, R. K. Molecular mapping and inheritance of restoration of fertility (Rf) in A4 hybrid system in pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 131, n. 8, p. 1605-1614, 2018.

SEIFERT, K.; MORGAN-JONES, G.; GAMS, W.; KENDRICK, B. **The genera of Hyphomycetes**. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, 2011. 997p.

SILVA, S. A. C. G.; SANTOS, A. G.; LOGES, V.; CASTRO, A. C. R.; ROSA, R. C. T. Sanitary quality of seed of *Paspalum* species. **Ornamental Horticulture**, v. 26, n. 3, p. 328-332, 2020.

TAO, L.; RUI, L.; XIULIANG, J.; JINFENG, D.; XINKAI, Z.; CHENGMING, S.; GUO, W. Evaluation of seed emergence uniformity of mechanically sown wheat with UAV RGB imagery. **Remote Sensing**, v.9, p.1-15, 2017.

TAVARES, L. C.; RUFINO, C. A.; OLIVEIRA, S.; BRUNES, A. P.; VILLELA, F. A. Treatment of rice seeds with salicylic acid: seed physiological quality and yield. **Journal of seed Science**, v. 36, n. 3, p. 352-356, 2014.

VANZOLINI, S.; SILVEIRA, T. G. Desempenho inicial em campo de lotes de sementes de milho tratadas com produtos a base de aminoácidos. **Nucleus**, v.6, n.2, p. 1-14, 2009.

ZHANG, H.; WANG, W.Q.; LIU, S. J.; MOLLER, I. M.; SONG, S.Q. Proteome analysis of poplar seed vigor. **PLOS ONE**, v.10, p. 1-19, 2015.

CAPÍTULO III

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE FEIJÃO GUANDU PARA O CONTROLE DE *Fusarium* sp.

DIAS, F.H.C. **Indução de resistência em plantas de guandu para o controle de *Fusarium* sp.** (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2021.

RESUMO: O feijão guandu (*Cajanus cajan* (L. Mill) é uma leguminosa, geralmente cultivada em terras com poucos recursos, utilizada como adubo verde na recuperação de áreas degradadas. Um dos principais patógenos que infectam as sementes de feijão guandu é o *Fusarium* sp., responsável por causar a murcha do *Fusarium*, que é considerada a principal doença dessa cultura. Nesse contexto, objetivou-se avaliar o potencial de controle *in vitro* e *in vivo* de elicitores a base de aminoácidos contra o *Fusarium* sp. no feijão guandu. Foram utilizados dez tratamentos: T₀ = Testemunha, T₁ = Fungicida (Azoxistrobina), T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Para verificar o efeito dos tratamentos nos isolados *in vitro*, adicionaram-se os tratamentos em meio de cultura BDA, vertidos em placas de Petri, e, no centro das placas foi adicionado um disco de 5 mm da colônia fúngica. O controle *in vivo* foi realizado em casa de vegetação onde avaliaram-se a incidência, trocas gasosas e a atividade das enzimas peroxidase (POD), polifenoloxidase (PPO) e fenilalanina amônia liase (FAL) em plantas de guandu, com 30 dias após a semeadura. No teste *in vitro*, os tratamentos T₁, T₂, T₅, T₆ e T₈ apresentaram os melhores resultados com relação a inibição do diâmetro médio da colônia (DMC), índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e percentual de inibição do crescimento micelial (PIC). Para o controle de incidência do *Fusarium* sp. (Figura 2), os tratamentos T₃, T₅, T₆, T₇, T₈ e T₉ mostraram-se eficientes no controle de incidência do patógeno. Ao avaliar as trocas gasosas observou-se que não houve diferença estatística nas variáveis estudadas (Figura 3). Os índices relacionados à Clorofila a, clorofila b, relação a/b e clorofila total, não apresentaram diferença significativa (Figura 4). A atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) em plantas de feijão guandu não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Figura 5). Para a atividade da peroxidase (POD), o tratamento T₄ estimulou a atividade dessa enzima, apresentando o maior resultado. Em relação à polifenoloxidase, observou-se diferença significativa em plantas de feijão guandu (Figura 7). Os tratamentos T₂, T₅, T₆ e T₈ são eficientes no controle do crescimento micelial no teste *in vitro*. Os tratamentos T₃, T₈ e T₉ são eficientes no controle da esporulação do *Fusarium* sp.. Os tratamentos T₃, T₅, T₆, T₇, T₈ e T₉ reduzem a incidência de *Fusarium* sp. em plantas de feijão guandu. Os tratamentos não interferem nas trocas gasosas em plantas de guandu. Apenas o tratamento T₄ induz a atividade da enzima peroxidase em plantas de feijão guandu.

Palavras-chave: *cajanus cajan*; controle alternativo; bioestimulantes; aminoácidos.

DIAS, F.H.C. **Resistance induction in pigeon pea plants to control *Fusarium* sp.** (Master in Agronomy) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2021.

ABSTRACT: Pigeon pea (*Cajanus cajan* (L. Mill) is a legume, usually cultivated on land with few resources, used as green manure in the recovery of degraded areas. One of the main pathogens that infect pigeon pea seeds is *Fusarium* sp., responsible for causing *Fusarium* wilt, which is considered the main disease of this crop. In this context, the objective was to evaluate the potential of *in vitro* and *in vivo* control of amino acid elicitors against *Fusarium* sp in pigeon pea. Ten treatments were used: T0 = Control, T1 = Fungicide (Azoxystrobin), T2 = AgroMos®, T3 = Liqui-Plex® Bonder, T4 = Liqui-Plex® CaMg+B, T5 = Liqui-Plex® Fast, T6 = Leaf Top® Aminoagro, T7 = Master Potassium®, T8 = Master RR Ultra® and T9 = Viusid® Agro To verify the effect of the treatments on the *in vitro* isolates, the treatments were added in PDA culture medium, poured into Petri dishes, and in the center of the plates a 5 mm colony disk was added fungal. The *in vivo* control was carried out in a greenhouse, where the incidence, gas exchange and activity of the enzymes peroxidase (POD), polyphenoloxidase (PPO) and phenylalanine ammonia lyase (FAL) in pigeon pea plants were evaluated 30 days after seeding. In the *in vitro* test, treatments T1, T2, T5, T6 and T8 showed the best results regarding inhibition of the average colony diameter (DMC), mycelial growth velocity index (IVCM) and percentage of inhibition of mycelial growth (PIC). To control the incidence of *Fusarium* sp. (Figure 2), treatments T3, T5, T6, T7, T8 and T9 proved to be efficient in controlling the incidence of the pathogen. When evaluating gas exchange, it was observed that there was no statistical difference in the studied variables (Figure 3). The indices related to Chlorophyll a, chlorophyll b, a/b ratio and total chlorophyll did not show any significant difference (Figure 4). The phenylalanine ammonia-lyase (FAL) activity in pigeon pea plants did not show significant difference between treatments (Figure 5). For peroxidase activity (POD), the T4 treatment stimulated the activity of this enzyme, showing the highest result. Regarding polyphenoloxidase, there was a significant difference in pigeon pea plants (Figure 7). Treatments T2, T5, T6 and T8 are efficient in controlling mycelial growth in the *in vitro* test. Treatments T3, T8 and T9 are efficient in controlling *Fusarium* sp. sporulation. Treatments T3, T5, T6, T7, T8 and T9 reduce the incidence of *Fusarium* sp. in pigeon pea plants. The treatments do not interfere with gas exchange in pigeon pea plants. Only T4 treatment induces peroxidase enzyme activity in pigeon pea plants.

Keywords: *cajanus cajan*; alternative control; biostimulants; amino acids.

1. INTRODUÇÃO

O feijão guandu (*Cajanus cajan* (L. Mill) é uma leguminosa, geralmente cultivada em terras com poucos recursos naturais, se destaca principalmente na África Oriental, Ásia e América do Sul, suas sementes são ricas em proteínas e vitaminas (SHARMA et al., 2016; DUKARE; PAUL, 2021), sendo utilizada na alimentação humana e animal, como adubo verde na recuperação de áreas degradadas. Essas características são originadas graças às suas características que propiciam melhorias nas propriedades químicas e físicas do solo (RAYOL;ALVINO-RAYOL, 2012).

O crescimento das plantas pode ser afetado quando são utilizadas sementes de baixo vigor e profundidade inadequada de semeadura, impossibilitando o estabelecimento de plântulas vigorosas (ROCHA et al., 2017). Um dos principais fatores que acarretam baixo vigor das sementes é a presença de patógenos. Esses patógenos afetam diretamente a germinação da semente reduzindo sua qualidade fisiológica, por conseguinte atingindo o desenvolvimento das mudas e sua produção no campo (SILVA et al., 2020).

Um dos principais patógenos que atacam o feijão guandu é o *Fusarium* sp., responsável por causar a murcha do *Fusarium*, principal doença da cultura, tornando-se o principal entrave na produtividade (SINGH et al., 2013). *Fusarium* sp. é considerado um fungo necrotrófico, com potencial de colonizar as partes da semente como tegumento, endosperma e embrião, sendo através das sementes infectadas a principal forma de disseminação desse patógeno em novas áreas (CAMARGO et al., 2017).

Os sintomas da presença de *Fusarium* spp. em sementes de feijão guandu geralmente aparecem durante a floração e na vagem, e na fase inicial de crescimento da planta (SINGH et al., 2018). O controle dessa doença se torna difícil devido à alta variabilidade genética do patógeno e suas estruturas de resistência que auxiliam na sua sobrevivência no solo por longos períodos (MILANESI et al., 2013; DEMARTELAERE et al., 2021).

Dentre as medidas de manejo da doença, destaca-se a indução de resistência através de elicitores de resistência, uma alternativa que não afeta o meio ambiente e fornece uma proteção, podendo ser utilizada juntamente com outras práticas de manejo integrado de doenças (DIAS-AREIRA et al., 2010). Os elicitores podem ser de origem biótica ou abiótica, quando em contato com a planta, induzem a expressão de genes que codificam diversas respostas de defesa a patógenos, ocorrendo à indução de resistência sistêmica adquirida (RSA) (BORSATTI et al., 2015).

A utilização dos biofertilizantes no controle de doenças vem se tonando uma opção agroecológica, devido ao seu grande potencial na redução do uso de produtos químicos, economia de energia e proporcionando aos agricultores novas oportunidades de fertilização sustentável (CALVO et al., 2014; WEZELI et al., 2014; LE MIRE et al., 2016; KOCIRA et al., 2020). Esses biofertilizantes são formados por compostos bioativos como ácidos húmicos, proteínas hidrolisadas, algas marinhas e extratos de microrganismos, entre outros (ROUPHAEL et al., 2018). As proteínas hidrolisadas e extratos de algas marinhas são fontes de aminoácidos, trazendo benefícios e fornecendo efeitos de eliciadores à vários fertilizantes (KHAN et al., 2019).

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo determinar o potencial de fungicida ou fungistático *in vitro* e *in vivo* de bioestimulantes a base de aminoácidos contra o *Fusarium* sp. em feijão guandu.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia (LAFIT) e Casa de Vegetação, na Universidade Federal da Paraíba, Campus II- Areia-PB, Brasil.

2.2. Elicitores utilizados em feijão guandu

Todos os elicitores selecionados para os tratamentos de sementes de feijão guandu possuem complexos de aminoácidos em sua composição, sendo esse o critério adotado para a escolha (Tabela 1).

Tabela 1. Elicitores a base de aminoácidos utilizados no controle *in vitro* e *in vivo* de *Fusarium* sp. isolado de sementes crioulas de feijão guandu oriundas do município de Cuité-PB.

Tratamentos	Dosagem
T ₀ : Testemunha	ADE
T ₁ : Azoxistrobina	100 à 300 L/ ha ⁻¹
T ₂ : AgroMos [®]	300 mL/ 100 L de água
T ₃ : Liqui-Plex [®] Bonder	150 mL /100 L de água
T ₄ : Liqui-Plex [®] CaMg+B	150 mL/100 L de água
T ₅ : Liqui-Plex [®] Fast	150 mL /100 L de água
T ₆ : Folha Top [®] Aminoagro	0,5 L/ ha ⁻¹
T ₇ : Master Potássio [®]	3 L/ ha ⁻¹
T ₈ : Master RR Ultra [®]	0,5 L/ha ⁻¹
T ₉ : Viusid [®] Agro	1 mL / 5 L de água

2.3. Obtenção do isolado de *Fusarium* sp.

Sementes de feijão guandu disponibilizadas pelo Instituto Nacional do Semiárido (INSA), adquiridas com a empresa Caiçara Comércio de Sementes LTDA, foram analisadas através do teste de germinação e, após alguns dias apresentaram a presença de alguns fungos. Foram identificadas as estruturas reprodutivas de *Fusarium* sp. com auxílio de microscópio óptico e literatura especializada (SEIFERT et al., 2011). O isolamento foi realizado com sementes contendo inóculo de *Fusarium* sp., onde transferiu-se os fragmentos para meio BDA (batata, dextrose e ágar). O patógeno foi repicado até se obter um isolado puro.

2.4. Controle in vitro de *Fusarium* sp. com elicitores

Os tratamentos foram adicionados em 100 mL de meio BDA e vertidos em placas de Petri (90 x 15 mm). Em seguida, um disco de 5 mm, contendo colônia de *Fusarium* sp., foi adicionado e posicionado no centro da placa. As placas foram vedadas e incubadas em B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*) regulada a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação do crescimento micelial (DMC) foi realizada diariamente através da medição do diâmetro da colônia de *Fusarium* sp. com uma régua graduada, em posição ortogonal, até que o primeiro isolado preenchesse toda a extensão da placa, totalizando oito dias de avaliação.

Para cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), utilizou-se a fórmula proposta por Oliveira (1991): $IVCM = \Sigma (D - D_a) / N$, em que: IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial; D = diâmetro médio atual da colônia; D_a = diâmetro médio da colônia do dia anterior; N = número de dias após a inoculação.

A porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) foi calculada conforme a fórmula utilizada por Bastos (1997), $PIC = (C - T / C) \times 100$, sendo: PIC = porcentagem de inibição; C = crescimento radial do patógeno (mm) sozinho (controle); T = crescimento radial do patógeno (mm) sobre os tratamentos.

Após as avaliações foi realizada a contagem de conídios. Para isso, foram adicionados 10 mL de ADE nas placas e retirados 10 μ L que foram transferidos para hemocítmetro, sendo feita a contagem de conídios/mL⁻¹. A porcentagem de inibição da esporulação (PIE) foi calculada a partir da fórmula proposta por Bastos (1997) $PIE = (Etc - C / Etc) \times 100$, sendo:

PIE = porcentagem de inibição da esporulação; Etc = número de esporos do tratamento controle; C = número de esporos do patógeno sobre influência dos tratamentos.

2.5. Controle *in vivo* de *Fusarium* sp. em plantas de feijão guandu

Foram utilizadas sementes oriundas do município de Cuité, Paraíba, Brasil (06° 28' 53,94" S e 36° 08' 58,87" W). O experimento *in vivo* foi conduzido em casa de vegetação durante um período de 30 dias. As sementes foram previamente desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 3 minutos, lavadas com ADE e colocadas para secar em bandejas contendo papel filtro previamente esterilizado (BRASIL, 2009).

As sementes foram imersas por 5 minutos nos tratamentos, agitando-as manualmente e armazenadas por 24 horas. Após esse período, as sementes foram inoculadas com *Fusarium* sp. por contato direto com a colônia do patógeno, onde as sementes de feijão guandu foram colocadas na placa de Petri, diretamente sobre o crescimento micelial das colônias puras de *Fusarium* sp., e mantidas em contato por 24 h a 25 ± 2 °C.

Após a inoculação do *Fusarium* sp. as sementes foram semeadas em copos descartáveis (300 mL) contendo substrato Mecplant[®], a uma profundidade de três centímetros, o qual foi umedecido com regas diárias.

2.6. Incidência de *Fusarium* sp. em plantas de feijão guandu

Para a avaliação da incidência do patógeno foi considerada a porcentagem de plantas com sintomas visíveis da doença em relação ao número total de plantas. Após 30 dias de semeadura as plantas foram coletadas e levadas ao Laboratório de Fitopatologia (LAFIT/CCA,) e posteriormente foram lavadas com água em balde e avaliadas quanto à presença de sintomas de podridão na raiz, no colo e sistema vascular.

Foram realizados isolamentos dos patógenos de todas as plantas, por meio da retirada de fragmentos do colo, que foram submetidos à desinfestação superficial (hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos e ADE). Em seguida, realizou-se o plaqueamento dos fragmentos em meio de cultura BDA. As placas foram mantidas por sete dias em câmara climatizada tipo B.O.D, regulada a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após este período, com auxílio do microscópio óptico e literatura especializada (SEIFERT et al., 2011) foram verificadas presença ou ausência de *Fusarium* sp..

2.7. Trocas gasosas

As avaliações foram realizadas aos 30 dias após a semeadura (DAS), no período das 8:00 às 10:00 horas. Foram determinadas: Taxa de assimilação de CO₂ (A) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E) ($\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (gs) ($\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentração interna de CO₂ (C_i) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em duas folhas que apresentavam sintomas da doença. De posse desses dados, foram quantificadas a eficiência no uso da água (EUA) (A/E) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) / (\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1})$] e a eficiência instantânea da carboxilação Φ_c (A/C_i) (BRITO et al., 2012). Foi utilizado Analisador de Gases Infravermelho (IRGA) modelo “LCPro+” da ADC BioScientific Ltda (KONRAD et al., 2005; BRITO et al., 2012).

As determinações do índice de clorofila a, b e total foram realizados pelo método não destrutivo, utilizando-se clorofilômetro, tendo os valores dimensionados em índice de clorofila Falker (FCI).

2.8. Análises enzimáticas

Foram analisadas as enzimas fenilalanina amônia-liase, peroxidase e polifenoloxidase. A extração do material foi realizada através da maceração de 0,5 g de folhas em 10 mL de acetato de sódio, até obter-se uma massa homogeneia, depositada em tubos plásticos, tipo eppendorf e centrifugadas a 12.000 g durante 15 min à 4 °C, coletando-se o sobrenadante.

A prova em branco II foi preparada usando 1,5 mL de solução tampão TRIS 0,01M. (pH 8,8), 0,5 mL de extrato enzimático e 1,0 mL de água destilada, para cada tratamento testado. As análises foram realizadas em triplicata. As determinações da quantidade de proteína presente nos referidos extratos foram realizadas pelo método de Bradford (1976).

2.8.1. Atividade da Fenilalanina Amônia-liase (FAL)

A atividade foi determinada pela quantificação do ácido trans-cinâmico liberado a partir da fenilalanina, que consiste na adição de 0.5 mL de extrato, 1.5 mL de tampão Tris-HCl (100 mM) (pH 8,8), 0.5 mL de fenilalanina (100 mM) e 0.5 mL de ADE em eppendorf (1,5 ml), sendo incubado em banho maria à 40 °C por 60 min. A reação foi paralisada com a adição de 0.5 mL de ácido clorídrico (5,0 M). A leitura foi realizada em cubeta de quartzo no espectrofotômetro por meio de variação na absorbância em comprimento de onda 290 nm 25

°C. Os resultados foram expressos em Unidades de Absorbância (UA) $\text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de proteína.

2.8.2. Atividade da Peroxidase (POX)

As reações para determinação da atividade enzimática da POX foram realizadas através da adição de 0.25 mL de extrato enzimático ao meio de reação em eppendorf contendo 0.25 mL de guaiacol (1,7%), 0.75 mL de tampão fosfato 0.1 M (pH 6,0) e 0.25 mL de H₂O₂ a 1,8%. A atividade enzimática foi monitorada em espectrofotômetro, pela variação da absorbância, no comprimento de onda de 470 nm à 25 °C, com a leitura realizada imediatamente após preparo da reação e resultados expressos em unidades de absorbância (UA) $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

2.8.3. Atividade da Polifenoloxidase (PPO)

Para a determinação da atividade da PPO, 0,5 mL do sobrenadante foi adicionado ao meio de reação contendo 0,25 mL de S-metil-catecol 0,6 mM e 0,75 μL de tampão fosfato 0,1 M (pH 6,8). As soluções foram incubadas a 40 °C durante 15 min e a reação paralisada com adição de 0.8 mL de ácido perclórico 2N. A atividade enzimática foi monitorada com auxílio de espectrofotômetro, pela variação da absorbância, no comprimento de onda de 395 nm, a 25 °C e resultados expressos em U.A./min./mg de proteína.

2.9. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado para o teste *in vitro* foi inteiramente casualizado, com dez tratamentos. O crescimento micelial foi distribuído em cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por duas placas de Petri. A esporulação foi distribuída em cinco repetições e uma unidade experimental.

Os parâmetros de incidência de *Fusarium* sp., índice de clorofila, trocas gasosas e atividade enzimática foram analisados em blocos casualizados.

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott até o nível de 5% de significância, por meio do software estatístico R[®] (R Core Team, 2020).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste *in vitro*, observou-se que os tratamentos apresentaram diferenças significativas entre si (Figura 1). Os tratamentos T1 (Fungicida), T2 (AgroMos[®]), T5 (Liqui-Plex[®] Fast), T6 (Folha Top[®] Aminoagro) e T8 (Master RR Ultra[®]) apresentaram os melhores resultados com relação a inibição do diâmetro médio da colônia (DMC) (1A), índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) (1B) e percentual de inibição do crescimento micelial (PIC) (1C).

Figura 1. Diâmetro médio da colônia (DMC), índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), percentual de inibição do crescimento micelial (PIC), esporulação (10⁶ esporos/mL) e percentual de inibição da esporulação (PIE) de *Fusarium* sp., sob aplicação de elicitores. Tratamentos: T₀ = Testemunha (Água destilada esterilizada), T₁ = Fungicida (Azoxistrobina), T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p ≤ 0,05).

O tratamento T2 (AgroMos[®]) se destacou positivamente entre todos os demais tratamentos, com o maior efeito inibitório do crescimento micelial. Resultado semelhante foi observado por Costa (2015), que também relatou a eficiência do AgroMos[®] na inibição do crescimento micelial de *Fusarium* spp. Buzón-Durán et al. (2020) utilizando alguns aminoácidos (Cisteína, Glicina, Prolina e Tirosina) observaram a inibição no teste *in vitro* do crescimento micelial de *F. culmorum*, assemelhando-se ao resultado da presente pesquisa.

Com relação à esporulação, os tratamentos T3 (Liqui-Plex[®] Bonder), T8 (Master RR Ultra[®]) e T9 (Viusid[®]) apresentaram os menores valores, diferindo do tratamento controle. Para o percentual de inibição da esporulação (PIE), todos os tratamentos com os elicitores apresentaram potencial de inibição, destacando-se os tratamentos T3, T8 e T9 com porcentagens de 40, 40 e 50% de inibição, respectivamente.

Utilizando aminoácidos, Queiroz et al.(2019) observaram a inibição *in vitro* da germinação de conídios de *Colletotrichum lindemuthianum*, sobretudo na concentração 0,25%, corroborando com os resultados do presente trabalho. O aumento da eficiência dos tratamentos testados depende da concentração de aminoácidos, e da presença de micro e macronutrientes na composição (ANDEL, 1966; POPKO et al., 2018).

Para o controle de incidência do *Fusarium* sp. (Figura 2), os tratamentos T3 (Liqui-Plex[®] Bonder), T5 (Liqui-Plex[®] Fast), T6 (Folha Top[®] Aminoagro), T7 (Master Potássio[®]), T8 (Master RR Ultra[®]) e T9 (Viusid[®]) mostraram-se eficientes no controle de incidência do patógeno, com diferença significativa do tratamento controle. Os tratamentos T5 e T7 se destacaram por apresentarem menores porcentagens de incidência em relação à testemunha e demais tratamentos, com porcentagens de 5 e 10%, respectivamente.

Figura 2. Incidência de *Fusarium* sp. em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência, aos 38 dias após a

semeadura. Tratamentos: T0 = Testemunha (água destilada esterilizada), T1 = Fungicida (Azoxistrobina), T2 = AgroMos®, T3 = Liqui-Plex® CaMg+B, T5 = Liqui-Plex® Fast, T6 = Folha Top® Aminoagro, T7 = Master Potássio®, T8 = Master RR Ultra® e T9 = Viusid® Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Avaliando a aplicação de aminoácidos para indução de resistência contra *F.culmorum* em plantas de trigo (*Triticum spelta* L.), Buzón-Durán et al. (2020) constataram eficiência dos tratamentos (7,5%) quando comparados com o controle (45,2%). El-Ghamry et al. (2009) relataram redução significativa da incidência de mancha de chocolate causada por *Botrytis fabae* em feijão fava (*Vicia faba*) após 75 dias da aplicação de húmus e aminoácidos, corroborando com os resultados do presente trabalho.

A aplicação de produtos a base de aminoácidos também induziu resistência ao cancro em limoeiro (*Citrus limon*) causado por *Xanthomonas citri* (HASABI et al., 2014). Resultados semelhantes aos observados por Dario et al. (2014) no controle de *Bipolaris oryzae* em arroz (*Oryza sativa*) com o uso de aminoácidos e fosfito sendo tão eficiente quanto o fungicida.

A maioria dos tratamentos foram eficientes, exceto os tratamentos T2 (AgroMos®) e T4 (Liqui-Plex® CaMg+B), que também possuem aminoácidos na sua composição. A eficácia desses produtos é determinada por diversos fatores, por exemplo, o tipo de produto, concentração, cultura, dose utilizada e origem do aminoácido (PARADIKOVIC et al., 2019).

Os biofertilizantes a base de aminoácidos utilizam como fonte o ácido glutâmico, ácido aspártico e alanina na formulação de seus produtos (COLLA et al., 2015). Avaliando a qualidade sanitária de sementes de leguminosas oriundas de regiões do Sudão, Abdulwehab al. (2015) relataram a ocorrência de *Alternaria alternata*, *A. tenuis*, *Aureobasidium pullulans*, *Curvularia brachyspora*, *C. pallescens*, *Drechslera rostrata* e *Fusarium solani* em sementes de feijão guandu.

A aplicação de aminoácidos proporciona às plantas efeito eliciador, porém ainda existe uma carência de estudos dos seus efeitos sobre *Fusarium* spp. (BUZÓN-DURÁN et al., 2020).

Ao avaliar as trocas gasosas em plantas de feijão guandu inoculadas e tratadas com elicitores, observou-se que não houve diferença estatística nas variáveis estudadas (Figura 3). Resultados semelhantes foram observados por Alfosea-Simón et al. (2020) onde o aminoácido (ácido aspártico) nas variáveis de Condutância estomática (gs), assimilação líquida de CO_2 , concentração de CO_2 nos espaços intercelulares (Ci) e na eficiência instantânea de uso da água (EUA) não se diferenciou entre tratamentos e controle.

Figura 3. Condutância estomática (g_s) ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), assimilação líquida de CO_2 (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração de CO_2 nos espaços intercelulares (C_i) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), temperatura foliar (TF) ($^{\circ}\text{C}$), eficiência intrínseca de uso da água ($EiUA$) ($\text{mmol m}^2 \text{ s}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$), eficiência instantânea de uso da água (EUA) ($\text{mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) e eficiência instantânea de carboxilação (EiC) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$] em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência, aos 22 dias após a semeadura. Tratamentos: T₀ = Testemunha (água destilada esterilizada), T₁ = Fungicida (Azoxistrobina), T₂ = AgroMos[®], T₃ = Liqui-Plex[®] Bonder, T₄ = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T₅ = Liqui-Plex[®] Fast, T₆ = Folha Top[®] Aminoagro, T₇ = Master Potássio[®], T₈ = Master RR Ultra[®] e T₉ = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Alguns trabalhos com a aplicação de aminoácidos em plantas também apresentaram respostas semelhantes ao do presente estudo nas variáveis de trocas gasosas, resultado também relatado por Frasca et al. (2020), em pesquisa com plantas de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*), observaram que a aplicação de micronutrientes em conjunto com complexo de aminoácidos não diferiu do tratamento controle em relação às variáveis de taxa transpiratória (E), condutância estomática (g_s) e concentração interna (C_i).

Esses resultados se distinguem dos obtidos por Mudo et al. (2020) e Rizwan et al. (2017) os quais avaliaram o efeito de aminoácidos em mangueira (*Mangifera indica*) e arroz (*Oryza sativa*), respectivamente. Esses autores observaram aumento das trocas gasosas após a aplicação de aminoácidos.

A ausência de respostas em relação à trocas gasosas pode-se considerar um resultado relevante, indicando que em alguns casos os aminoácidos não afetam o desenvolvimento da planta não havendo necessidade de uso por aumentar os custos de produção (FRASCA et al.,2020).

Os índices relacionados à Clorofila a, clorofila b, relação a/b e clorofila total, não apresentaram diferença significativa (Figura 4). Dessa forma é possível dizer que, os tratamentos com os elicitores não interferiram nas reações fotoquímicas das plantas de feijão guandu. O teor de clorofila correlaciona-se com a concentração de N na planta e, também, com a produtividade das culturas (SILVA et al., 2012).

Figura 4. Índice de Clorofila Falker a (ICF a), b (ICF b), total (ICF T) e relação clorofila a/b (ICF a/b) em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência, aos 22 dias após a semeadura. Tratamentos: T0 = Testemunha (água destilada esterilizada), T1 = Fungicida (Azoxistrobina), T2 = AgroMos[®], T3 = Liqui-Plex[®] Bonder, T4 = Liqui-Plex[®] CaMg+B, T5 = Liqui-Plex[®] Fast, T6 = Folha Top[®] Aminoagro, T7 = Master Potássio[®], T8 = Master RR Ultra[®] e T9 = Viusid[®] Agro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

A eficiência fotossintética está relacionada ao desenvolvimento de plantas cultivadas em diferentes ambientes, servindo de suporte para tomadas de decisões relacionadas à adubação nitrogenada, pois, a clorofila apresenta alta relação com o rendimento para diversas

culturas (NOGUEIRA et al., 2018). A taxa fotossintética é reduzida à medida que se reduz a concentração de nitrogênio nos vegetais (RIGON et al, 2013).

As enzimas relacionadas com à defesa da planta são ativadas a partir de mecanismos bioquímicos responsáveis pela biossíntese e atividade dessas enzimas, que se encontram presentes nas plantas na forma inativa (MARTINS et al., 2014).

A atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) em plantas de feijão guandu não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Figura 5). Todos o tratamentos apresentaram decréscimo, exceto o tratamento T4 (Liqui-Plex[®] CaMg+B), que não diferiu do tratamento controle.

Figura 5. Atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência e inoculadas com *Fusarium* sp., aos 38 dias após a semeadura. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Dentre os tratamentos que apresentaram menor atividade da FAL, pode-se destacar os tratamentos T2 (AgroMos[®]), T6 (Folha Top[®] Aminoagro) e T8 (Master RR Ultra[®]) por apresentarem os índices mais baixos entre todos os tratamentos utilizados.

A FAL tem como substrato o aminoácido fenilalanina, uma enzima essencial para todas as vias de síntese de compostos fenólicos, os quais estão envolvidos com resistência a

pragas e patógenos (BRANDÃO, 2020). A fenilalanina amônia-lias e participa na biossíntese do hormônio de defesa, que é necessária para ocorrer a indução de resistência nas plantas (DIXON; PAIVA, 1995). A produção dessa enzima é regulada durante o crescimento vegetal, mas é também induzida em células vizinhas ao local de infecção por vários estímulos ambientais, como infecção, ferimentos, contaminação por metais pesados, luz e reguladores de crescimento (PINTO et al., 2011). A FAL possui grande importância para as plantas, agindo como precursora de pigmentos (antocianinas) e atuando na proteção contra os estresses abióticos e bióticos que são causados pela ação de fitopatógenos (MARIANGEL et al., 2013).

Para a atividade da peroxidase (POD), observou-se diferença entre os tratamentos (Figura 6). O tratamento T4 (Liqui-Plex[®] CaMg+B) estimulou a atividade dessa enzima, apresentando o maior resultado. Resultados semelhantes foram relatos por Habasi et al. (2014), onde observaram um aumento na atividade desta enzima em plantas de limão (*Citrus limon*) tratadas com aminoácidos (L-arginina, L-metionina, L-ornitina). Os tratamentos T1(Fungicida), T6 (Folha Top[®] Aminoagro) e T8 (Master RR Ultra[®]) apresentaram os menores valores quando comparados com a testemunha e os demais tratamentos.

Figura 6. Atividade enzimática da peroxidase em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência e inoculadas com *Fusarium* sp., aos 38 dias após a semeadura. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Ardebili et al. (2012) observaram aumento das taxa de peroxidase em plantas de *Aloe vera* L. tratadas com aminoácidos. Esse aumento ocorre devido à peroxidase contribuir com efeito benéfico para a inoculação do patógeno, reduzindo a incidência da doença. Portanto, o aumento da peroxidase é um dos marcadores da indução de resistência (BALLESTER et al., 2010). Mudanças na atividade da peroxidase são correlacionadas com respostas de defesa de plantas, tanto para estresses bióticos quanto para abióticos (TAIZ et al., 2017). Pode-se considerar que o aumento dessa atividade pode ser desencadeado por qualquer tipo de estresse sofrido pela planta (DEBONI, 2019).

Apesar da peroxidase estar relacionada com os processos na indução de resistência, não há uma regra definida para seu comportamento, o qual pode depender do tipo de indutor, tempo após a aplicação na planta e concentração (BONALDO et al., 2005).

Em relação à polifenoloxidase, observou-se diferença significativa em plantas de feijão guandu (Figura 7). Apenas o tratamento T4 (Liqui-Plex[®] CaMg+B) apresentou taxa similar ao controle, enquanto os demais tratamentos reduziram essa atividade.

Figura 7. Atividade enzimática da polifenoloxidase em plântulas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) oriundas de sementes tratadas com elicitores de resistência e inoculadas com *Fusarium* sp., aos 38 dias após a semeadura. Médias seguidas de mesma letra não diferem entresi pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

O aumento da atividade dessas enzimas relacionadas à patogênese é geralmente observado no contato da planta com o patógeno, no entanto, elas também são frequentemente estimuladas durante o mecanismo de resistência induzida (CHOUDHARY et al., 2016). A polifenoloxidase é responsável por fornecer resistência ao ataque de patógenos e doenças (TEXEIRA et al., 2017).

A polifenoloxidase também exerce uma relação direta com a fotossíntese, auxiliando na manutenção da homeostase do sistema (BOECKX et al., 2015). Segundo El-Nabarawy (2001) a aplicação de aminoácidos apresenta um papel fundamental em processos de síntese de enzimas, nas quais são importantes para o crescimento e síntese de proteínas.

4. CONCLUSÃO

Os tratamentos T2 (AgroMos[®]), T5 (Liqui-Plex[®] Fast), T6 (Folha Top[®] Aminoagro) e T8 (Master RR Ultra[®]) são eficientes no controle do crescimento micelial de *in vitro* de *Fusarium* spp..

Os tratamentos T3 (Liqui-Plex[®] Bonder), T8 e T9 (Viusid[®] Agro) são eficientes no controle da esporulação de *in vitro* *Fusarium* sp.;

Os tratamentos T3 ((Liqui-Plex[®] Bonder), T5 (Liqui-Plex[®] Fast), T6 (Folha Top[®] Aminoagro), T7 (Master Potássio[®]), T8 (Master RR Ultra[®]) e T9 (Viusid[®] Agro) reduzem a incidência de *Fusarium* sp. em plantas de feijão guandu;

Os tratamentos com os bioestimulantes utilizados não interferem nas trocas gasosas em plantas de guandu;

Apenas T4 (Liqui-Plex[®]CaMg+B) induz a produção de enzimas peroxidase em plantas de feijão guandu.

5. REFERÊNCIAS

- ANDEL, O. M. V. AMINO ACIDS AND PLANT DISEASES. **Annual Review of Phytopathology**, v. 4, p. 349-368, 1966.
- ARDEBILI, Z. O.; MOGHADAM, A. R. L.; ARDEBILI, N. O.; PASHAIE, A. R. The induced physiological changes by foliar application of amino acids in *Aloe vera* L. plants. **Plant Omies Journal**, v.5, n.23, p. 279-284, 2012.
- BALLESTER, A. R.; IZQUIERDO, A.; LAFUENTE, M. T.; GONZÁLEZ-CANDELA, L. Biochemical and molecular characterization of induced resistance against *Penicillium digitatum* in citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.56, n.1, p.31–38, 2010.
- BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelis* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 441-443, 1997.
- BOECKX, T.; WINTERS, A. L.; WEBB, K. J.; KINGSTON-SMITH, A. H. Polyphenol oxidase in leaves; is there any significance to the chloroplastic localization?. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 1–12, 2015.
- BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F.; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S. et al. (Ed). **Indução de resistência em plantas à patógenos e insetos**. Piracicaba, SP:FEALQ, 2005. p, 11-28.
- BORSATTI, F. C.; MAZARO, S. M.; DANNER, M. A.; NAVA, G. A.; DALACOSTA, N. L. Indução de resistência e qualidade de pós-colheita de amora-preta tratadas com ácido salicílico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 2, p. 318-326, 2015.
- BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelis* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 441-443, 1997.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BRANDÃO, L. C. **Atividade de fenilalanina amônia-liase (PAL) e compostos bioativos em *Nopalea cochenilifera* e *Opuntia tuna***. 2020. 72 f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2020.
- BRASIL (2009). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 395p.
- BRITO, M. E. B.; SOARES, L. A. A.; FERNANDES, P. D.; LIMA, G. S.; SÁ, F. V. S.; MELO, A. S. Comportamento fisiológico de combinações copa/porta-enxerto de citros sob estresse hídrico. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 27, p. 857-865, 2012.
- BUZÓN-DURÁN, L.; MARTÍN-GIL, J.; MARCOS-ROBLES, J. L.; FOMBELLIDA-VILLAFRUELA, Á.; PÉREZ-LEBEÑA, E.; MARTÍNS-RAMOS, P. Antifungal Activity of Chitosan Oligomers–Amino Acid Conjugate Complexes against *Fusarium culmorum* in Spelt (*Triticum spelta* L.). **Agronomy**, v.10, p.1-16, 2020.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant Soil**, v. 383, p. 3-41, 2014.

CAMARGO, M. P.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. Efficiency of Blotter test and agar culture medium to detect *Fusarium graminearum* and *Pyricularia grisea* in wheat seeds. **Journal of Seed Science**, v. 39, n. 3, p. 297-302, 2017.

CHAKRABORTY, U.; DUTTA, S. & CHAKRABORTY, B. Drought induced biochemical changes in Young tea leaves. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 6, p.103-106, 2001.

CHOUDHARY, D. K.; VARMA, A.; TUTEJA, N. **Plant-microbe interaction: an approach to sustainable agriculture**. 1.ed. Singapura: Springer Singapore. 2016, 509p.

COLLA, G.; NARDI, S.; CARDARELLI, M.; ERTANI, A.; LUCINI, L.; CANAGUIER, R.; ROUPHAEL, Y. Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, p. 1-10, 2015.

COSTA, R. H. **Métodos de inoculação de *Fusarium* spp. e uso de indutores de resistência “in vitro” para controle da fusariose do abacaxizeiro ornamental**. 2015. 41f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

DARIO, G. J. A.; DARIO, I. S. N.; VAZQUEZ, G. H.; PERES, A. R. Adubação foliar com produtos a base de aminoácidos e fosfito na cultura do arroz irrigado. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.13, n.2, p.119-129, 2014.

DEMARTELAERE, A. C. F.; PRESTON, H. A. F.; PRESTON, W.; MATA, T. C.; COSTA, W. P. L. B.; MEDEIROS, D. C.; NICOLINI, C.; SOUZA, J. B.; SILVA, T. P. P.; PAIVA, L. L.; MEDEIROS, P. L.; MONTE, F. D. M.; CAMPOS, F. M. A.; SILVA, C. A. O.; SILVA, E. S.; CANDIDO, D. Controle biológico da murcha de *Fusarium* no feijão caupi. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.1, p.4798-4818, 2021.

DERBONI, T, C. **A homeopatia como indutora de resistência do feijoeiro à herbivoria de insetos em sistema agroecológicos**. 2019. 149 f. (Tese em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária de Passo Fundo, Passo Fundo, 2019.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, L. R.; ARIEIRA, J. O. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v.36, n. 3, p. 228-232, 2010.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, v. 7, n.7 ,p.1085-1097, 1995.

DUKARE, A.; PAUL, S. Biological control of *Fusarium* wilt and growth promotion in pigeon pea (*Cajanus cajan*) by antagonistic rhizobacteria, displaying multiple modes of pathogen inhibition. **Rhizosphere**, v.17, p. 1-10, 2021.

EL-GHAMRY, A. M.; EL-HAI, K. M. A.; GHONEEM, K. M. Amino and Humic Acids Promote Growth, Yield and Disease Resistance of Faba Bean Cultivated in Clayey Soil. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**,v. 3, n.2, p.731-739, 2009.

EL-NABARAWY, M. A. Mitigation of dark induced senescence. – By some amino acids. **Annals of Agricultural Sciences**, v.39, n.1, p.225–232, 2001.

FRASCA, L. L. M. NASCENTE, A. S.; LANNA, A. C.; CARVALHO, C. S.; COSTA, G. G. Bioestimulantes no crescimento vegetal e desempenho agrônômico do feijão-comum de ciclo superprecoce. **Revista Agrarian**, v. 13, n.47, p.27-41, 2020.

HASABI, V.; ASKARI, H.; ALAVIS, S. M.; ZAMANIZADEH, H. Effect of amino acid application on induced resistance against citrus canker disease in lime plants. **Journal of Plant Protection Research**, v.54, n. 2, p. 144-149, 2014.

HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; MESQUINI, R. M.; CRUZ, M. E. S.; STANGARLIN, J. R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 3, p. 439-445, 2012.

KHAN, S.; YU, H.; LI, Q.; GAO, Y.; SALLAM, B. N.; WANG, H. et al. Exogenous Application of Amino Acids Improves the Growth and Yield of Lettuce by Enhancing Photosynthetic Assimilation and Nutrient Availability. **Agronomy**, v. 9, n.5, p. 1-17, 2019.

KONRAD, M. L. F.; SILVA, J. A. B.; FURLANI, P. R.; MACHADO, E. C. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. **Bragantia**, v.64, p.339- 347, 2005.

LE MIRE, G. et al. Implementing plant biostimulants and biocontrol strategies in the agroecological management of cultivated ecosystems. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, v. 20, p. 299-313, 2016.

MARIANGEL, E.; REYES-DIAZ, M.; LOBOS, W.; BENSCH, E.; SCHALCHLI, H.; IBARRA, P. The antioxidant properties of calafate (*Berberis microphylla*) fruits from four different locations in southern Chile. **Ciência e Investigación Agraria**, v.40, n.1, p.161-170, 2013.

MARTINS, J. J. A.; LEITE FILHO, M. T.; PEREIRA, E. M.; SANTOS, Y. M. G.; MARTINS, A. N. A.; SILVA, L. A.; ROCHA, A. P. T. Características físico-químicas de tangerina "cravo" cultivadas organicamente no brejo paraibano. **1º Simpósio Nordeste de Química**. 1p. 2014.

MILANESI, P. M.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; REINIGER, L. R. S.; ANTONIOLLI, Z. I.; JUNGES, E.; LUPATINI, M. Detecção de *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. e antagonismo de *Trichoderma* sp. em soja sob plantio direto. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3219 - 3234, 2013.

MUDO, A. E. D.; LOBO, J. T.; CARREIRO, D. A.; CAVACINI, J. A.; SILVA, L. S.; CAVALCANTE, I. H. L. Leaf gas exchange and flowering of mango sprayed with biostimulant in semi-arid region. **Revista Caatinga**, v.33, n.2, p. 332-340, 2020.

NOGUEIRA, B. B.; IGLESIAS, L.; MESQUITA, J. V.; NAKATANI, M. C.; PUTTI, F. F. Índice spad em plantas de tomateiro cultivado em fibra de coco e submetido a pulsos de fertirrigação. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v.12, n.1, p.1-6, 2018.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.)**. 1991. 111 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1991.

PARADIKOVIC, N.; TELKIC, T.; ZELJKOVIC, S.; LISJAK, M.; SPOLJAREVIC, M. Biostimulants research in some horticultural plant species—A review. **Food Energy Security**, v.8, p. 1-17, 2019.

PINTO, M. S. T.; RIBEIRO, J. M.; OLIVEIRA, E. A. G.; O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas. **Revista Brasileira Biociências.**, v. 9, n. 2, p. 241-248, 2011.

POPKO, M.; MICHALAK, I.; WILK, R.; GRAMZA, M.; CHOJNACKA, K.; GÓRECKI, H. Effect of the New Plant Growth Biostimulants Based on Amino Acids on Yield and Grain Quality of Winter Wheat. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 1-13, 2018.

QUEIROZ, S.B.; STANGARLIN, J. R.; JÚNIOR, J. B.D.; RÖDER, C.; CARVALHO, J. C.; ROSA, W. B. Ação *in vitro* de quelatos aminoácidos- metais sobre *Colletotrichum lindemuthianum* E *Xanthomonas axonopodispv. Phaseoli*. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 18, n. 1, p. 82-87, 2019.

R Core Team (2020). R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

RAYOL, B. P.; ALVINO-RAYOL, F. L. Uso de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) para adubação verde e manejo agroecológico de plantas espontâneas em reflorestamento no estado do Pará. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.7, n.1, p. 04-110, 2012.

RIGON, J. P.G.; BELTRÃO, N. E. M.; CAPUANI, S.; BRITO NETO, J. F.; SILVA, F. V. Análise não destrutiva de pigmentos fotossintéticos em folhas de gergelim. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.3, p.258-261, 2012.

RIZWAN, M.; ALI, S.; AKBAR, M. Z.; SHAKOOR, M. B.; MAHMOOD,A.; ISHAQUE, W. Foliar application of aspartic acid lowers cadmium uptake and Cd-induced oxidative stress in rice under Cd stress. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 1-10, 2017.

ROCHA, R. G. L.; RIBEIRO, M. C. C.; SILVA, F. D. B. Desenvolvimento inicial do feijão guandu em diferentes profundidades e posições da semente na vagem. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.13, n.4, p.297-301, 2017.

ROUPHAEL, Y.; SPÍCHAL, L.; PANZAROVÁ, K.; CASA, R.; COLLA, G. High-Throughput plant phenotyping for developing novel biostimulants: from lab to field or From Field to lab?. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1-6, 2018.

SEIFERT, K.; MORGAN-JONES, G.; GAMS, W.; KENDRICK, B. 2011.**The genera of Hyphomycetes**.CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, 2011.866 p.

SHARMA, M.; GHOSH, R.; TELANGRE, R.; RATHORE, A.; SAIFULLA, M.; MAHALINGA, D. M.; SAXENA, D. R.; JAIN, Y. K. Environmental influences on

Pigeonpea-*Fusarium udum* interactions and stability of genotypes to *Fusarium* wilt. **Frontiers in Plant Science**, v.7, n. 253, p.1-10, 2016.

SILVA, A. C. G.; SANTOS, A. G.; LOGES, V.; CASTRO, A. C. R.; ROSA, R. C.T. Sanitary quality of seed of *Paspalum* species. **Ornamental Horticulture**, v. 26, n.3, p. 328-332, 2020.

SILVA, M.; MANNIGEL, A. R.; MUNIZ, A. S.; PORTO, S. M. A.; MARCHETTI, M. E.; NOLLA, A.; BERTANI, R. M. A. Ammonium sulphate on maize crops under no tillage. **Bragantia**, v. 71, n.1, p. 90-97, 2012.

SINGH, A. K.; SINGH, D.K.; KUMAR, R.; SINGH, M.N.; RAI, V.P. Inheritance studies on *Fusarium* wilt resistance in long duration pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]. **Legume Research An International Journal**, p. 1-4, 2018.

SINGH, A. K.; RAI, V. P.; CHAND, R.; SINGH, R. P.; SINGH, M. N. Genetic diversity studies and identification of SSR markers associated with *fusarium* wilt (*Fusarium udum*) resistance in cultivated pigeonpea (*Cajanus cajan*). **Journal of Genetics**, v.93, p. 273-280, 2013.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre, RS: Artmed, 2017. 888p.

TEXEIRA, W. F.; FAGAN, E. B.; SOARES, L. H.; UMBURANAS, R. C.; REICHARD, K.; NETO, D. D. Foliar and Seed Application of Amino Acids Affects the Antioxidant Metabolism of the Soybean Crop. **Frontiers in Plant Science**, v.8, p.1-14, 2017.

WEZEL, A.; CASAGRANDE, M.; COLETTE, F.; VIAN, J-F.; FERRER, A.; PEIGNÉ, J. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.34, p. 1-20, 2014.

ZHAO, H. et al. Stress stimulus induced resistance to *Cladosporium cucumerinum* in cucumber seeding. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 44, p. 36-40, 2005.