



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

EDCARLOS CAMILO DA SILVA

**ESPÉCIES DE *Fusarium* ASSOCIADAS ÀS SEMENTES DE FEIJÃO-FAVA:
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, POTENCIAL TOXIGÊNICO E CONTROLE**

AREIA

2024

EDCARLOS CAMILO DA SILVA

**ESPÉCIES DE *Fusarium* ASSOCIADAS ÀS SEMENTES DE FEIJÃO-FAVA:
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, POTENCIAL TOXIGÊNICO E CONTROLE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, como requisito para obtenção do título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração: Agricultura Tropical.

Orientadora:

Prof^a. Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento

AREIA

2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586e Silva, Edcarlos Camilo da.

Espécies de *Fusarium* associadas às sementes de feijão-fava: caracterização molecular, potencial toxigênico e controle / Edcarlos Camilo da Silva. - Areia:UFPB/CCA, 2024.

92 f. : il.

Orientação: Luciana Cordeiro do Nascimento.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCA.

1. Agronomia. 2. *Phaseolus lunatus* L. 3. Diversidade genética. 4. Patologia de sementes. 5. Caracterização molecular. 6. Termoterapia. I. Nascimento, Luciana Cordeiro do. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 631/635(043.2)

EDCARLOS CAMILO DA SILVA

**ESPÉCIES DE *Fusarium* ASSOCIADAS ÀS SEMENTES DE FEIJÃO-FAVA:
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, POTENCIAL TOXIGÊNICO E CONTROLE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Agronomia da Universidade Federal da Paraíba, Campus II,
como requisito para obtenção do título de Doutor em
Agronomia – Área de Concentração: Agricultura Tropical.

Aprovado em: 21 / 12 /2023

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **LUCIANA CORDEIRO DO NASCIMENTO**
Data: 20/12/2024 17:14:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 **KAMILA CAMARA CORREIA**
Data: 19/12/2024 15:13:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dra. Kamila Câmara Correia (Coorientadora)
Universidade Federal do Cariri - UFCA

Documento assinado digitalmente
 **ALICE FERREIRA DA SILVA**
Data: 20/12/2024 14:53:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Alice Ferreira da Silva (Avaliadora)
FAPESQ/ UFPB

Documento assinado digitalmente
 **OTILIA RICARDO DE FARIAS**
Data: 23/12/2024 06:21:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Otilia Ricardo de Farias (Avaliadora)
FAPESQ/ UFPB

Documento assinado digitalmente
 **LEOSSAVIO CESAR DE SOUZA**
Data: 19/12/2024 21:13:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Leossávio César de Souza (Avaliador)
UFPB/ DFCA

*Ao Senhor Jesus, autor e consumidor da fé;
Aos meus pais **Evaldo Amâncio** e **Maria Aparecida** por todo amor e dedicação e
À minha esposa **Hilderlande Florêncio da Silva**, por estar presente em todos os momentos.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado força para continuar mesmo diante de tantas adversidades e dificuldades.

A minha família, em especial ao meu pai Evaldo Amâncio e minha mãe Maria Aparecida, por todos os conselhos, ensinamentos e compreensão durante toda a minha trajetória acadêmica.

À minha esposa, Hilderlande Florêncio, pelo apoio incondicional em todos os momentos, principalmente nos de incerteza, incentivando-me a continuar sempre.

A minha orientadora, Profa. Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento, pela paciência e compreensão, o meu profundo e eterno agradecimento.

A minha Coorientadora, Profa. Dra. Kamila Câmara Correia pela colaboração no trabalho.

A Dra. Ana Paula de Barros, do Laboratório de Fitopatologia, da Universidade Federal do Cariri (UFCA) pela colaboração na realização desse trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Fitopatologia (LAFIT), Sra. Francisca de Souto e Kátia Albuquerque, pela respeitosa convivência e carinho.

Aos funcionários da estação experimental Chã de Jardim, em especial Alexandre Paulino (Xuriu) e José Natanael (Bel).

Aos colegas de Laboratório pelo companheirismo e amizade, Silvana Nunes, Severino Neto, Robson Monteiro, Gabriela Monteiro, Lucy Gleide, Mirelly Coelho, Mirelly Porcino, Valdeir de Souza, Jakeline Florêncio, Magaly Lopes, Guilherme Chaves, Analberto Nascimento, Iranilson Porfírio, Adiel Cruz, Háimyk Souza, Andreza Lima, Lucimere Xavier, Otília Ricardo, Matheus Cardoso e Thamillys Nascimento.

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB/CCA) juntamente ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA) pela oportunidade de realizar o curso Doutorado.

Aos docentes do PPGA pelos ensinamentos valorosos e contribuição para minha formação e crescimento profissional.

Aos membros da Banca Examinadora pelo aceite do convite e valiosas contribuições.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente me apoiaram e contribuíram para a finalização desta etapa.

“Assim diz o Senhor: Não se glorie o sábio na sua sabedoria, nem se glorie o forte na sua força; não se glorie o rico nas suas riquezas, mas o que se gloriar, glorie-se nisto: em Me entender e Me conhecer, que Eu Sou o Senhor (...)” (Jeremias 9.23-24)

SILVA, E. C. **Espécies de *Fusarium* associadas às sementes de feijão-fava: Caracterização molecular, potencial toxigênico e controle.** Areia, Paraíba: Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba. Fevereiro. 2024. 92f. Tese (Doutorado em Agronomia) Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

RESUMO GERAL

Phaseolus lunatus L. é uma das quatro espécies do gênero *Phaseolus* mais cultivadas e produzidas mundialmente. A falta de registro de doenças e identificação dos patógenos aumenta a vulnerabilidade da cultura, com maiores riscos de perdas econômicas e a dificuldade de estratégias adequadas de manejo. A termoterapia tem se mostrado um método eficaz para erradicar microrganismos, mas depende da sensibilidade diferencial ao estresse térmico entre a semente e o patógeno. Assim, objetivou-se realizar a caracterização molecular, potencial toxigênico e patogênico de isolados de *Fusarium* spp., bem como avaliar o efeito da termoterapia na qualidade de sementes de feijão-fava. Buscou-se avaliar o efeito da termoterapia em sementes de seis variedades: Branca, Cearense, Cara Larga, Orelha de Vó, Roxinha e Orelha de Veia, as quais foram submetidas aos tratamentos controle (não tratadas), fungicida Captana (240 g 100 kg⁻¹ de sementes) e termoterapia úmida a 40, 50 e 60 °C por 5 e 10 minutos de imersão. As sementes foram submetidas aos testes de sanidade, germinação e emergência. Um total de 26 isolados de *Fusarium* spp. associados às sementes das variedades de feijão-fava foram isolados. A caracterização molecular do fungo foi realizada utilizando sequências das regiões gênicas TEF₁ e RPB₂. O perfil toxigênico das espécies de *Fusarium* para detecção do gene *FUM1* preditivo da fumonisina, foi determinado por método molecular utilizando os *primers* FUM53F/R e VERTF1/2. A prevalência foi obtida pelo número de isolados pertencentes a uma espécie em relação ao número de isolados por variedade. A patogenicidade dos isolados de *Fusarium* spp. foi avaliada através da inoculação das sementes da variedade Orelha de Vó pelo método de suspensão de esporos. Foram determinados o índice de doença, taxa de infecção, estande final de plantas, índice de velocidade de emergência, volume de raízes, comprimento e massa seca da parte aérea e raízes. A termoterapia a 40 °C por 5 e 10 minutos foi a melhor opção nas condições testadas para reduzir a incidência de *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* sp., sem afetar a qualidade fisiológica das sementes. As sementes das variedades Branca, Cearense e Orelha de Veia, apresentaram maior sensibilidade ao estresse térmico quando expostas ao calor úmido a 60 °C por 10 minutos, com redução na porcentagem de germinação, emergência e aumento de sementes mortas. Onze espécies de *Fusarium* foram identificadas: *F. hainanense*, *F. caatingaense*, *F. lacertarum*, *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum*, *F. irregulare*, *F. verticillioides*, *F. annulatum*, *F. napiforme*, *F. contaminatum* e *F. fabacearum*. Este é o primeiro relato no mundo das espécies *F. hainanense*, *F. lacertarum*, *F. irregulare*, *F. annulatum*, *F. napiforme*, *F. contaminatum* e *F. fabacearum* infectando sementes de feijão-fava. Dentre as espécies, *F. verticillioides* foi a mais prevalente, estando restrita às variedades Cara Larga, Orelha de Vó e Orelha de Veia. Todos os isolados de *F. verticillioides* e um de *F. hainanense* mostraram-se positivos quanto à presença do gene *FUM1*, preditivo da fumonisina. Os isolados afetaram negativamente os parâmetros fisiológicos das plantas de feijão-fava, levando a uma série de disfunções metabólicas e de crescimento.

Palavras-chave: *Phaseolus lunatus* L.; diversidade genética; patologia de sementes; caracterização molecular; termoterapia.

SILVA, E. C. *Fusarium* species associated with lima bean seeds: Molecular characterization, toxigenic potential and control. Areia, Paraíba: Center for Agricultural Sciences, Federal University of Paraíba. February. 2024. 92f. Thesis (Doctorate in Agronomy) Postgraduate Program in Agronomy.

GENERAL ABSTRACT

Phaseolus lunatus L. is one of the four species of the genus *Phaseolus* most cultivated and produced worldwide. The disease absence and pathogen identification increases the crop vulnerability, with greater risks of economic losses and the difficulty of adequate management strategies. Thermotherapy has shown to be an efficient method for eradicating microorganisms, but it depends on the differential sensitivity to heat stress between seed and pathogen. Thus, the objective of this work was to perform the molecular characterization, toxigenic and pathogenic potential of *Fusarium* spp. isolates, as well as to evaluate the effect of thermotherapy on the quality of lima bean seeds. It was evaluate thermotherapy effect on seeds of six lima beans varieties: Branca, Cearense, Cara Larga, Orelha de Vó, Roxinha and Orelha de Veia, which were subjected to control treatments (untreated), Captana fungicide (240 g 100 kg⁻¹ of seeds) and humid thermotherapy at 40, 50 and 60 °C for 5 and 10 minutes of immersion. The seeds were carried out to the sanity, germination and emergence tests. A total of 26 isolates of *Fusarium* spp. associated with the seeds of lima bean varieties were isolated. The molecular fungi characterization was performed using sequences of the TEF1 and RPB2 gene regions. The toxigenic profile of the *Fusarium* species for detection of the *FUM1* gene predictive of fumonisin was determined by molecular method using the primers FUM53F/R and VERTF1/2. Prevalence was obtained by the number of isolates belonging to a species in relation to the number of isolates per variety. The *Fusarium* spp. pathogenicity was evaluated through inoculating seeds of the Orelha de Vó variety using spore suspension method. The disease index, infection rate, final plant stand, emergence speed index, roots volume of, length and dry mass of the aerial part and roots were determined. Thermotherapy at 40 °C for 5 and 10 minutes was the best results under the conditions tested to reduce the incidence of *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. and *Penicillium* sp., without affecting the seeds physiological quality. The seeds of Branca, Cearense and Orelha de Veia showed greater sensitivity to thermal stress when exposed to humid heat at 60 °C for 10 minutes, with percentage of germination, emergence reduction and an increase in dead seeds. Eleven species of *Fusarium* were identified: *F. hainanense*, *F. caatingaense*, *F. lacertarum*, *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum*, *F. irregulare*, *F. verticillioides*, *F. annulatum*, *F. napiforme*, *F. contaminatum* and *F. fabacearum*. This is the first report in the world of the species *F. hainanense*, *F. lacertarum*, *F. irregulare*, *F. annulatum*, *F. napiforme*, *F. contaminatum* and *F. fabacearum* infecting lima bean seeds. Among the species, *F. verticillioides* was the most prevalent, being restricted to the varieties Cara Larga, Orelha de Vó and Orelha de Veia. All *F. verticillioides* isolates and one of *F. hainanense* showed themselves positive as presence of the *FUM1* gene, predictive of fumonisin. The isolates did not affect the physiological parameters of lima bean plants, leading to a series of metabolic and growth dysfunctions.

Keywords: *Phaseolus lunatus* L.; genetic diversity; seed pathology; molecular characterization; thermotherapy.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo II

Figura 1 - Local de coleta das sementes de feijão-fava. Fonte: SILVA, E. C. (2024)41

Capítulo III

Figura 1 - Árvore concatenada gerada pelo método de Máxima Verossimilhança com as espécies pertencentes ao complexo *Fusarium incarnatum-equiseti*, utilizando sequências das regiões gênicas TEF₁ e RPB₂. Os isolados deste estudo estão em negrito. Os valores de suporte de bootstrap (MV ≥70) encontram-se nos nós. *F. newnessense* foi utilizado como outgroup.....72

Figura 2. Árvore concatenada gerada pelo método de Máxima Verossimilhança com as espécies pertencentes ao complexo *Fusarium fujikuroi*, utilizando sequências das regiões gênicas TEF₁ e RPB₂. Os isolados deste estudo estão em negrito. Os valores de suporte de bootstrap (MV ≥70) encontram-se nos nós. *F. newnessense* foi utilizado como outgroup.....75

Figura 3 - Árvore concatenada gerada pelo método de Máxima Verossimilhança com as espécies pertencentes ao complexo *Fusarium oxysporum*, utilizando sequências das regiões gênicas TEF₁ e RPB₂. Os isolados deste estudo estão em negrito. Os valores de suporte de bootstrap (MV ≥70) encontram-se nos nós. *F. newnessense* e *F. foetens* foram utilizados como outgroup.....77

Figura 4 - Prevalência das espécies de *Fusarium* associadas às sementes de variedades de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). V₁: Branca, V₂: Cearense, V₃: Cara Larga, V₄: Orelha de Vó, V₅: Roxinha e V₆: Orelha de Veia.....78

Figura 5 - Perfil toxigênico das espécies de *Fusarium* spp. associadas as sementes de variedades tradicionais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) provenientes do Estado da Paraíba. V₁: Branca, V₂: Cearense (Orelha de Vó Vermelha), V₃: Cara Larga, V₄: Orelha de Vó, V₅: Roxinha e V₆: Orelha de Veia (Cearense). *F. hainanense*: F01, F04 e F22; *F. contaminatum*: F02; *F. verticillioides*: F05, F10, F14, F16, F17, F24 e F27; *F. caatingaense*: F07 e F18; *F. annulatum*: F09; *F. napiforme*: F15; *F. lacertarum*: F19 e F20; *F. sulawesiense*: F21 e F29; *F. pernambucanum*: F23; *F. fabacearum*: F25 e *F. irregulare*: F30. FUM+: Espécies que apresentaram o gene para fumonisina quando utilizado os primers FUM53F/R e VERTF1/2.....79

Figura 6 - Taxa de infecção (TI), estande final (EF), índice de velocidade de emergência (IVE) e volume de raízes (VR) oriundos de sementes de feijão-fava var. 'Orelha de Vó', inoculadas com *Fusarium* spp., aos 21 dias após a semeadura. F01, F04 e F22: *F. hainanense*; F02: *F. contaminatum*; F05, F10, F14, F16, F17, F24 e F27: *F. verticillioides*; F07 e F18: *F. caatingaense*; F09: *F. annulatum*; F12, F13 e F31: *Fusarium* sp.; F15: *F. napiforme*; F19 e F20: *F. lacertarum*; F21 e F29: *F. sulawesiense*; F23: *F. pernambucanum*; F25: *F. fabacearum* e F30: *F. irregulare*. Médias seguidas de cores diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$)81

Figura 7 - Comprimento da parte aérea (CPA), raízes (CPR), massa seca da parte aérea (MSA) e raízes (MSR) oriundos de sementes de feijão-fava var. 'Orelha de Vó', inoculadas com *Fusarium* spp., aos 21 dias após a semeadura. F01, F04 e F22: *F. hainanense*; F02: *F.*

contaminatum; F05, F10, F14, F16, F17, F24 e F27: *F. verticillioides*; F07 e F18: *F. caatingaense*; F09: *F. annulatum*; F12, F13 e F31: *Fusarium* sp.; F15: *F. napiforme*; F19 e F20: *F. lacertarum*; F21 e F29: *F. sulawesiense*; F23: *F. pernambutcanum*; F25: *F. fabacearum* e F30: *F. irregulare*. Médias seguidas de cores diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$)82

Figura 8. Índice de vigor de plantas de feijão-fava var. ‘Orelha de Vó’, oriundas de sementes inoculadas com *Fusarium* spp., aos 21 dias após a semeadura. F01, F04 e F22: *F. hainanense*; F02: *F. contaminatum*; F05, F10, F14, F16, F17, F24 e F27: *F. verticillioides*; F07 e F18: *F. caatingaense*; F09: *F. annulatum*; F12, F13 e F31: *Fusarium* sp.; F15: *F. napiforme*; F19 e F20: *F. lacertarum*; F21 e F29: *F. sulawesiense*; F23: *F. pernambutcanum*; F25: *F. fabacearum* e F30: *F. irregulare*. Médias seguidas de cores diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$)84

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1 - Teor de água em sementes tradicionais de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i> L.)	44
Tabela 2 - Incidência de fungos em sementes de variedades tradicionais de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i> L.) submetidas à termoterapia via calor úmido.....	45
Tabela 3 - Primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GE) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes tradicionais de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i> L.) submetidas a termoterapia via calor úmido.....	47
Tabela 4 - Percentual de sementes mortas (SM) e plântulas anormais (PAN) oriundas de sementes tradicionais de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i> L.) submetidas à termoterapia via calor úmido.....	49
Tabela 5 - Comprimento da parte aérea (CPA), raiz (CPR), e matéria seca de parte aérea (MSA), raiz (MSR), oriundos do teste de germinação de sementes tradicionais de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i> L.), submetidas à termoterapia via calor úmido.....	50
Tabela 6 - Primeira contagem de emergência (PCE), emergência (EM), índice de velocidade de emergência (IVE) e plântulas anormais (PAN) oriundos de sementes tradicionais de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i> L.) submetidas à termoterapia via calor úmido.....	52
Tabela 7 - Comprimento da parte aérea (CPA), raiz (CPR), e matéria seca de parte aérea (MSA), raiz (MSR), oriundos do teste de emergência de sementes tradicionais de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i> L.), submetidas à termoterapia via calor úmido.....	54

Capítulo III

Tabela 1 - Isolados de <i>Fusarium</i> spp. obtidos de sementes infectadas de variedades tradicionais de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i> L.) provenientes de municípios no Estado da Paraíba.....	70
--	----

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - ESPÉCIES DE <i>Fusarium</i> ASSOCIADAS ÀS SEMENTES DE FEIJÃO-FAVA: CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, POTENCIAL TOXIGÊNICO E CONTROLE.....	12
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2. OBJETIVO.....	15
2.1 Objetivo geral.....	15
2.2 . Objetivos específicos.....	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1. Aspectos gerais do feijão-fava.....	16
3.2. Qualidade sanitária de sementes de feijão-fava.....	17
3.3. Termoterapia de sementes no controle de patógenos.....	19
3.4. <i>Fusarium</i> spp. associado a sementes de feijão-fava.....	20
3.5. Identificação de espécies de <i>Fusarium</i> spp.....	21
3.6. Micotoxinas produzidas em sementes e grãos de plantas cultivadas.....	22
3.7. Fumonisinias.....	24
3.8. Biossíntese da fumonisina.....	25
REFERÊNCIAS.....	28
CAPÍTULO II - QUALIDADE DE SEMENTES DE FEIJÃO-FAVA SUBMETIDAS À TERMOTERAPIA.....	37
1. INTRODUÇÃO.....	40
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4. CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS.....	57
CAPÍTULO III - PREVALÊNCIA, PERFIL TOXIGÊNICO E PATOGENICIDADE DE ESPÉCIES DE <i>Fusarium</i> ASSOCIADAS ÀS SEMENTES DE FEIJÃO-FAVA.....	60
1. INTRODUÇÃO.....	63
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	64
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	69
4. CONCLUSÃO.....	84
REFERÊNCIAS.....	85

CAPÍTULO I

ESPÉCIES DE *Fusarium* ASSOCIADAS ÀS SEMENTES DE FEIJÃO-FAVA: CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, POTENCIAL TOXIGÊNICO E CONTROLE

1. INTRODUÇÃO GERAL

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é a segunda leguminosa de maior importância socioeconômica do gênero *Phaseolus*, considerada uma importante fonte de nutrientes na alimentação humana, podendo ser consumida na forma de grãos maduro e verde, e fonte de renda, especialmente para pequenos produtores (ASSUNÇÃO NETO et al., 2022).

Como outras leguminosas, as sementes são ricas em vitaminas, incluindo B1, B2 e B3, além de minerais, como cálcio, ferro, zinco, fósforo e potássio, que auxiliam na movimentação muscular, mantêm o sistema nervoso saudável e fortalecem os ossos e dentes (ADEBO, 2023). O consumo da fava é principalmente voltado para a alimentação humana, porém pode ser utilizado na alimentação animal na forma de forragem, como adubo verde e cultura de cobertura para proteção do solo (SOUZA et al., 2016).

Essa cultura é amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais e está distribuída em países como México, Guatemala, Equador, Peru, Colômbia, Espanha, Nigéria, Indonésia, Filipinas, Sul dos Estados Unidos, Canadá e muitas outras regiões do mundo, incluindo países do Mediterrâneo, onde está associado à gastronomia local (BRIA et al., 2019; MARTÍNEZ-NIETO et al., 2020). No Brasil, o cultivo da fava apresenta-se como fonte de alimentação e renda, principalmente na região Nordeste, com produção nacional de 10.372 toneladas para a safra de 2023, sendo os estados do Ceará (3.514 toneladas) e Paraíba (3.260 toneladas) os maiores produtores, concentrando 65% da produção nacional (IBGE, 2024).

Embora seja uma das leguminosas mais apreciadas na região Nordeste, exercendo forte influência socioeconômica devido à sua rusticidade, o cultivo do feijão-fava ainda é limitado, principalmente pelo baixo nível tecnológico que, associado a fatores bióticos e abióticos, impossibilita alcançar seu alto potencial produtivo (LUCENA et al., 2018; SILVA et al., 2019). Assim, altas temperaturas (superiores a 30-35 °C), irregularidade de precipitação, deficiência no manejo da fertilidade do solo e da nutrição de plantas, influenciam diretamente a produtividade e a rentabilidade da cultura (GRANJA et al., 2019; MACHADO et al., 2022; SÁ et al., 2022).

O feijão-fava pode ser infectado por diversos patógenos, podendo comprometer o desenvolvimento vegetativo e produtivo (BESERRA-JÚNIOR; BARGUIL, 2021). Dentre os principais patógenos associados às sementes estão os fungos presentes tanto na fase de campo, como na fase de pós-colheita, durante o armazenamento (MEDEIROS et al., 2019).

Já foram relatados 22 gêneros fúngicos infectando naturalmente sementes de 34 acessos de feijão-fava, tendo destaque *Fusarium* spp. (MOTA et al., 2017). Este patógeno causa murchas vasculares, tombamento e podridões radiculares em diversas culturas, como também

micotoxinas responsáveis por afetar negativamente a qualidade fisiológica das sementes e plantas infectadas (REVERBERI et al., 2010; SAMPAIO et al., 2020). O gênero *Fusarium* é constituído em sua maioria por espécies patogênicas, responsáveis por causar danos severos em diversas culturas no Brasil e no mundo. Além da baixa qualidade de sementes e grãos infectados, a presença de micotoxinas constitui um sério problema à segurança alimentar e à saúde pública (LU et al., 2021). Entre as micotoxinas produzidas, as fumonisinas, tricotecenos e zearalenona são consideradas as mais importantes devido à sua elevada incidência, níveis de produção e toxicidade (ASTORECA et al., 2019; GARCIA-CELA et al., 2022).

As fumonisinas são as toxinas majoritárias produzidas por esse grupo de fungos, entretanto, dentro desta família, predominam as fumonisinas B1 (FB1), B2 (FB2) e B3 (FB3), sendo FB1 a mais estudada e a de maior relevância devido sua alta capacidade toxigênica e impacto econômico (FANELLI et al., 2013). A ocorrência de um fungo toxigênico antes ou depois da colheita, não está diretamente relacionado com a produção de micotoxinas, sendo necessário outros fatores que influenciam fortemente a biossíntese, como temperatura, atividade de água e pH (REVERBERI et al., 2010; ACUÑA-GUTIÉRREZ et al., 2022).

O controle preventivo é a maneira mais eficiente e segura de garantir a ausência de micotoxinas (AGRIOPOULOU et al., 2020). Algumas pesquisas têm recomendado o uso de fungicidas para o controle de fungos produtores de toxinas, porém, em função da eficácia limitada, toxicidade e possível estímulo à produção de micotoxinas, tem se buscado alternativas mais efetivas que visam minimizar os efeitos tóxicos desse metabólito secundário (CHEN et al., 2019; WANG et al., 2023).

Assim, a identificação precisa das espécies de *Fusarium* é essencial para que as estratégias de manejo da fusariose sejam implementadas adequadamente (NIKITIN et al., 2023). Medidas integradas baseadas em métodos físicos, químicos, biológicos e cultural têm mostrado resultados promissores (MIELNICZUK; SKWARYŁO-BEDNARZ, 2020).

A termoterapia é um tratamento físico que envolve submeter as sementes à ação do calor, seja úmido ou seco, em combinação com o tempo de exposição. Para obter sucesso com esse método, é necessário conhecer essa combinação ideal para alcançar resultados promissores no controle de fungos e manutenção da qualidade fisiológica (MEDEIROS et al., 2019; VIEIRA et al., 2019).

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Realizar a caracterização molecular, potencial toxigênico e patogênico de isolados de *Fusarium* spp., e avaliar o efeito da termoterapia na qualidade de sementes de feijão-fava.

2.2 . Objetivos específicos

- ✓ Obter sementes de variedades de feijão-fava provenientes de diferentes municípios da Paraíba.
- ✓ Determinar a ocorrência e a inibição de fungos em sementes de feijão-fava após a aplicação da termoterapia.
- ✓ Definir a influência da termoterapia quanto a germinação de sementes e emergência de plântulas de feijão-fava.
- ✓ Obter isolados de *Fusarium* spp., a partir de sementes de feijão-fava
- ✓ Identificar e caracterizar molecularmente isolados de *Fusarium* spp. associados às sementes de feijão-fava.
- ✓ Determinar o potencial toxigênico de *Fusarium* spp. associado às sementes de feijão-fava.
- ✓ Avaliar as características patogênicas de *Fusarium* spp. sobre feijão-fava.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Aspectos gerais do feijão-fava

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é a segunda leguminosa de maior importância do gênero *Phaseolus*, originado na região central da Mesoamérica há cerca de 10.000 anos (GARCIA et al., 2021). A espécie pertence ao filo Spermatophyta, subfilo Angiospermae, classe Dicotyledoneae, ordem Fabales, família Fabaceae (TEMEGNE et al., 2021), compreendendo mais de 70 espécies, das quais cinco foram domesticadas: *Phaseolus acutifolius* Asa Gray (feijão tepary), *Phaseolus coccineus* L. (feijão ayocote ou feijão corredor), *Phaseolus dumosus* Macfady (feijão anual), *Phaseolus lunatus* L. (feijão-fava) e *Phaseolus vulgaris* L. (feijão comum) (BITOCCHI et al., 2017). É uma planta herbácea autógama com forma de capuz de quilhas geminadas e flores típicas, com hábito de crescimento determinado ou indeterminado, com ciclo anual, bianual ou perene, podendo atingir cerca de 6 m de altura (BRIA et al., 2019; TEMEGNE et al., 2021).

Suas raízes pivotantes e bem desenvolvidas são capazes de alcançar até 2 m de comprimento, enquanto as folhas são trifoliadas com folíolos em formatos do tipo lanceolados, ovais ou acuminados. Os frutos são vagens deiscentes do tipo polispérmicos, contendo entre duas a quatro sementes por fruto (TEMEGNE et al., 2021). As sementes variam em termos de cor, tamanho e formato, com forma esférica, curva ou reniforme e são fontes vitais de nutrientes, principalmente nas América Central e do Sul (JESÚS PIRES et al., 2022). A composição química das sementes é variável, contendo pelo menos 20% de proteína e mais de 50% de carboidratos; além de ser uma excelente fonte de aminoácidos como isoleucina, leucina, valina, lisina, treonina, triptofano, fenilalanina, metionina e histidina. Esses aminoácidos são componentes biológicos essenciais para o corpo humano, desempenhando funções cruciais na biossíntese, neurotransmissão e outras atividades metabólicas (ADEBO, 2023). Seu tegumento normalmente é de coloração verde ou creme, embora algumas variedades sejam salpicadas e manchadas de vermelho, preto, roxo, branco, marrom escuro ou marrom claro (FARINDE et al., 2018).

É uma cultura típica da região Nordeste do Brasil que se destaca pela aceitação dos consumidores e pela valorização, beneficiando os produtores, em sua maioria agricultores familiares. Os grãos são consumidos na forma verde ou seco (ASSUNÇÃO-FILHO et al., 2022). Na safra de 2023, foram produzidos no Brasil 10.372 toneladas de grãos secos, numa área colhida de 33.153 ha com rendimento médio de 313 Kg/ha. Desse total a região Nordeste foi responsável por 10.266 toneladas em uma área colhida de 33.045 ha com rendimento médio

de 311 Kg/ha. Os estados do Ceará (3.514 toneladas) e Paraíba (3.260 toneladas) se destacam como maiores produtores concentrando 65% da produção nacional (IBGE, 2024).

O feijão-fava possui diversas aplicações além de sua utilização na culinária. As folhas e caules podem ser transformados em feno ou silagem, podendo ser cultivado como adubo verde e cultura de cobertura, além de ser, em alguns casos, utilizado como forragem (ADEBO, 2023). No entanto, a utilização em sua forma não processada pode resultar em envenenamento dos animais por cianeto de hidrogênio (FARINDE et al., 2018).

Nesta região há grande diversidade de variedades tradicionais, caracterizadas por apresentar alta adaptação, rusticidade e ampla variabilidade de sementes, com distintos tamanhos e colorações que podem em certas ocasiões apresentar diversas denominações locais e regionais (SÁNCHEZ-NAVARRO et al., 2019), com base em caracteres particulares, como “Branca”, “Orelha de vó”, “Preta rajada”, “Manteiga”, “Moita” e “Boca de moça”, entre outras (LUSTOSA-SILVA et al., 2023).

Mesmo diante de sua relevância para a região Nordeste, alguns estudos enfatizam a baixa produtividade, fato esse atribuído a aspectos como a escassez de tecnologias nos cultivos (SILVA et al., 2019; PEREIRA-FILHO et al., 2022) e ausência de estratégias de manejo contra pragas e agentes causais de doenças (BESERRA-JÚNIOR; BARGUIL, 2021).

Uma dessas doenças é a fusariose (*Fusarium* spp.), que promove danos severos em várias espécies de leguminosas em todo o mundo (SAMPAIO et al., 2020). Os sintomas característicos incluem escurecimento vascular, epinastia foliar, nanismo, murcha progressiva, desfolha, podridões corticais, tombamento de plântulas e podridões em sementes (SUMMERELL; LESLIE, 2011). A qualidade sanitária das sementes tem se tornado cada vez mais relevante para o setor produtivo, uma vez que as sementes infectadas são a principal forma de disseminação de patógenos para novas áreas de cultivo, além de afetar o desempenho fisiológico e acelerar o processo de deterioração das sementes durante o armazenamento (SOUSA et al., 2022).

3.2. Qualidade sanitária de sementes de feijão-fava

As sementes desempenham um papel importante para o cultivo bem-sucedido em diversas culturas e a resposta das plantas a outros insumos depende em grande parte da qualidade da semente. Estima-se que sementes de boa qualidade podem contribuir para um aumento de 18 a 20% no rendimento da cultura (GEBEYAW, 2020).

No entanto, alguns fatores têm limitado a produção das culturas, principalmente a ocorrência de patógenos, que em sua maioria são transmitidos por sementes. Essa transmissão

não apenas reduz a germinação e o vigor, mas também pode causar alterações morfológicas nas plantas, reduzindo o rendimento entre 15 à 90% (GEBEYAW, 2020; KUMAR et al., 2020).

A ocorrência de doenças de etiologia fúngica têm incrementado a vulnerabilidade da cultura do feijão-fava, elevando o risco de perdas econômicas e a dificuldade para o manejo adequado (BESERRA-JÚNIOR; BARGUIL, 2021). A maior parte desses microrganismos estão associados às sementes, tais como os gêneros fúngicos *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, *Colletotrichum* e *Fusarium* (SOUSA et al. 2018; CAVALCANTE et al. 2019; BARRETO et al., 2021; BESERRA-JÚNIOR; BARGUIL, 2021).

A associação patógeno-semente é uma das formas que favorece a sobrevivência e a disseminação de patógenos. Os efeitos adversos dessa associação estão, sobretudo, relacionados à transmissão e disseminação de doenças em novas áreas, além da redução da qualidade das sementes, que, geralmente, são infectadas antes ou após a colheita (Martín et al., 2022).

Mota et al. (2017) ao avaliarem a diversidade fúngica em sementes de feijão-fava constataram a presença de fungos fitopatogênicos como *Fusarium* spp., *Colletotrichum truncatum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium* sp. Em outro estudo com feijão-fava, agora envolvendo os fungos *C. truncatum* e *M. phaseolina*, agentes causais da antracnose e da podridão de carvão, Mota et al. (2019) constataram que ambos os fungos foram transmitidos das sementes para as plântulas, com taxa de transmissão de 83,1% e 76,46%, respectivamente. Além disso, a produção de fava pode ser limitada pela ocorrência da rizoctoniose, causada por *R. solani* e a podridão do colo, causada por *Sclerotium rolfsii*. (ASSUNÇÃO et al., 2011; SILVA et al., 2014).

Sementes infectadas durante o armazenamento podem diminuir o seu poder germinativo, além de acelerar sua deterioração, culminando com a perda da viabilidade e produção de micotoxinas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Os principais agentes fúngicos associados à deterioração das sementes de feijão-fava foram identificados como *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Curvularia* sp., *Monilinia* sp. e *Fusarium* spp. (MOTA et al., 2017).

O gênero *Fusarium* é um dos grupos mais importantes de fungos fitopatogênicos que inclui alguns dos patógenos mais devastadores, responsáveis por afetar diversas culturas ao redor do mundo, sendo algumas espécies importantes produtoras de micotoxinas, substância tóxica à humanos e animais (SUMMERELL, 2019).

Os sintomas típicos causados por *Fusarium* spp. em feijão-fava incluem murcha vascular e podridão de raiz (SOUSA et al., 2017). A presença de fungos de importância fitopatológica associados à cultura do feijão-fava, reforça a necessidade de medidas de controle para garantir a qualidade sanitária das sementes.

3.3. Termoterapia de sementes no controle de patógenos

O controle químico ainda é o método mais utilizado no tratamento de sementes para controle de patógenos. Entretanto, o aumento da resistência dos patógenos, bem como os efeitos nocivos desses produtos ao meio ambiente e a saúde humana, tem levado a uma crescente demanda por novas alternativas de controle, seja física, biológica, orgânica ou natural (DOURADO et al., 2020).

A termoterapia é um tratamento físico onde o calor é o principal agente de controle e sua eficácia está diretamente relacionada à sensibilidade diferencial entre o patógeno e a semente. Nesse caso, a maior amplitude da faixa entre os pontos térmicos letais do patógeno e da semente é de fundamental importância para o sucesso do tratamento (MEDEIROS et al., 2019; VIEIRA et al., 2019).

Este tratamento consiste em expor as sementes ao calor seco ou úmido. O calor seco é menos eficiente na troca de calor em comparação com a via úmida, o que requer um tempo maior de exposição. Embora seja simples e acessível, pode causar danos às sementes, mas bem menores do que o calor úmido, já que não há rompimento das membranas celulares que pode ocasionar perda de metabólitos utilizados no processo germinativo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Diversos autores relataram resultados promissores com o uso desse tratamento no controle de fungos em sementes, a exemplo de Cunha et al. (2017) que constataram que a imersão das sementes de abóbora (*Cucurbita pepo*) em água a 60 °C por 6 e 12 minutos reduziu a incidência de *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Penicillium* sp., *Phoma* sp. e *Rhizopus* sp. Medeiros et al. (2019) verificaram que as temperaturas de 40 e 50 °C por cinco e dez minutos de imersão, reduziram a incidência de *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. e *Colletotrichum* sp., em sementes de soja (*Glycine max* L.).

Vieira et al. (2019) observaram uma redução significativa na incidência de *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp., em sementes de milho (*Zea mays* L.) tratadas à 60 °C durante 1 e 2 minutos de imersão. Cardoso et al. (2020) constataram que a termoterapia via calor úmido à 55 °C por 15 minutos foi eficiente para o controle de *Alternaria brassicicola* em sementes de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*). Os resultados das pesquisas tem demonstrado resultados promissores para o uso da termoterapia via calor úmido no tratamento de sementes de feijão-fava, oferecendo uma alternativa ao uso de produtos químicos.

3.4. *Fusarium* spp. associado a sementes de feijão-fava

O gênero *Fusarium* pertence ao reino Fungi, filo *Ascomycota*, ordem *Hypocreales* e família *Nectriaceae* (INDEX FUNGORUM, 2023). Foi descrito e classificado pela primeira vez em 1809 pelo micologista alemão Link. As espécies deste gênero possuem uma gama de hospedeiros, que inclui patógenos de plantas, humanos e animais (LESLIE; SUMMERELL, 2006). Quando as condições ideais para o desenvolvimento da doença não estão presentes, o fungo consegue sobreviver através de estruturas de resistência chamadas clamidósporos, dificultando seu controle em condições de campo (KAMIL et al., 2020).

As espécies de *Fusarium* pertencem a um grupo de fungos cosmopolita, tanto saprofíticos como patogênicos para plantas, animais e humanos. São também possíveis produtores de micotoxinas, o que os torna um dos mais devastadores patógenos para as plantas, podendo ser disseminados principalmente pelo ar, solo, água e sementes (STEPIEŃ, 2023).

Características morfológicas baseadas na forma e dimensões conidiais de macro e microconídios, fiálides e formação de clamidósporos, são a principal forma de identificação e descrição taxonômica das espécies de *Fusarium* (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

Por muitos anos, este gênero foi avaliado apenas por caracteres morfológicos para a identificação de espécies. No entanto, técnicas moleculares incrementaram a identificação da diversidade de patógenos transmitidos por sementes e auxiliam a desenvolver estratégias de manejo mais eficientes (MARTÍN et al., 2022).

Os sintomas causados por *Fusarium* spp. incluem escurecimento vascular, nanismo, murcha progressiva e desfolhamento que levam a morte da planta. As raízes e caules desenvolvem uma descoloração marrom escuro nos vasos do xilema que pode ser observada quando seccionados no sentido longitudinal (JADON et al., 2020; BAHADUR, 2021). A murcha é resultante da combinação da atividade do patógeno, devido a colonização dos vasos do xilema, e dos mecanismos de defesa da planta, como produção de géis, gomas e tiloses, bloqueando absorção de água e nutrientes pelas raízes (SAMPAIO et al., 2020). Também são responsáveis por ocasionar podridões no colo, raízes e sementes. A infecção faz com que as raízes e o colo da planta apodreçam, resultando em um sistema radicular deficiente, com maior suscetibilidade ao colapso (JADON et al., 2020). As sementes normalmente são infectadas no campo, antes da colheita e, em condições de armazenamento, podem apresentar baixa viabilidade e vigor, resultando em baixo rendimento da cultura (GEBEYAW, 2020).

Embora existam poucas pesquisas da associação de *Fusarium* spp. em sementes de feijão-fava, já foram relatadas várias espécies, incluindo *F. falciforme* (SOUSA et al., 2017), *F. verticillioides*, *F. sulawesiense* (BARRETO et al., 2021) e *F. caatingaense* (MACIEL et al.,

2021). Além disso, a espécie *F. falciforme* está entre as espécies que fazem parte do complexo *Fusarium solani* (FSSC) responsável por causar fusariose em feijão-fava no Nordeste do Brasil (SOUSA et al., 2017). Considerado um patógeno saprofítico, foi relatado causando doenças em uma ampla gama de hospedeiros, incluindo culturas de grande importância econômica, como o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) no México (DÍAZ-NÁJERA et al., 2021), soja na China (XU et al., 2022), cebola (*Allium cepa* L.) na Índia (SARWADNYA et al., 2023) e melão (*Cucumis melo*) no Brasil (NOGUEIRA et al., 2023).

O tratamento de sementes é considerado um meio barato e altamente eficaz de controlar doenças transmitidas por sementes. No entanto, só é possível implementar um manejo eficaz se os agentes patogênicos forem identificados corretamente (MANCINI et al., 2016; MARTÍN et al., 2022).

3.5. Identificação de espécies de *Fusarium* spp.

Atualmente, o gênero *Fusarium* compreende centenas de espécies distribuídas em 23 complexos de espécies. Dentre estes, alguns merecem destaque quanto a sua importância para a fitopatologia, como os complexos *F. fujikuroi*, *F. incarnatum-equiseti*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. sambucinum* e *F. tricinctum*. (SUMMERELL, 2019).

Desde meados da década de 1980, as definições de espécies de *Fusarium* têm se baseado em três conceitos predominantes: morfológico, biológico e filogenético para diferenciar as espécies. Em geral, o conceito morfológico baseia-se na semelhança de caracteres morfológicos observáveis. O biológico exige compatibilidade sexual entre membros da mesma espécie e o filogenético é baseado na análise de sequências gênicas (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

O problema mais comum resultante da descrição morfológica de espécies é o agrupamento de isolados que deveriam ser separados em uma espécie comum. No caso das espécies biológicas, os problemas mais comuns, incluem altos níveis de reprodução assexuada, frequências relativas desiguais dos alelos *mating-type* em diferentes populações, número limitado de linhagens que são férteis ou falta de condições ambientais apropriadas para a reprodução sexuada (SUMMERELL et al., 2003; LESLIE; SUMMERELL, 2006).

A associação dos conceitos de espécie filogenética e morfologia é a mais usada para diferenciar as espécies do gênero *Fusarium*. A filogenia é realizada por meio da amplificação e análise das sequências de DNA dos genes selecionados, permitindo a geração de dados para a construção de filogramas que forneçam informações sobre variabilidade e relações evolutivas (LESLIE; SUMMERELL, 2006). Atualmente, as técnicas moleculares têm sido essenciais na identificação de espécies e na filogenia, pois a grande diversidade do gênero obriga constante

atualização dos táxons anteriormente descritos (LESLIE; SUMMERELL, 2006; STEPIEŃ, 2023).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é um método que permite amplificar e gerar cópias de fragmentos específicos de DNA milhões de vezes devido à sua especificidade, velocidade e sensibilidade, no caso de fungos, a PCR é usada principalmente para caracterização e identificação desses organismos (SRIVASTAVA et al., 2020). A identificação de espécies de *Fusarium* pode ser através de alinhamento de sequências das regiões gênicas calmodulina (*CmdA*), segunda subunidade maior da RNA polimerase II dependente de DNA (*Rpb2*), fator de alongação 1- apha (*Tef1*) e β -tubulina (*Tub2*) (LOMBARD et al., 2019).

Segundo O'Donnell et al. (2015) as regiões gênicas *Tef1* e *Rpb2* possuem maior robustez e confiabilidade para identificação de espécies de *Fusarium*, pois apresentam alto nível de polimorfismo da sequência, mesmo para espécies estreitamente relacionadas, não possuem cópias não-ortólogas e são facilmente amplificadas para todas as espécies do gênero.

Assim, a identificação a nível de espécie dos isolados de *Fusarium* spp. associados às sementes de feijão-fava é essencial para que estratégias de manejo sejam implementadas adequadamente.

3.6. Micotoxinas produzidas em sementes e grãos de plantas cultivadas

As leguminosas de grãos secos ocupam um lugar de destaque na alimentação humana e animal, pois são produtos agrícolas com crescente relevância comercial e nutricional. Semelhante a outras culturas, as leguminosas podem ser afetadas por fungos no campo e durante o armazenamento das sementes. Alguns desses fungos produzem micotoxinas, que podem causar graves danos à saúde humana e animal, como intoxicação aguda e efeitos crônicos, como por exemplo, carcinogênese e deficiência imunológica (ACUÑA-GUTIÉRREZ et al., 2022).

As micotoxinas podem estar presente em soja, milho, sorgo, amendoim, cereais, sementes de leguminosas, oleaginosas e outras culturas destinadas à alimentação humana e animal. Além do risco em relação ao consumo direto de alimentos e rações contaminadas, há a possibilidade de contaminação em produtos alimentícios derivados de animais, como carne, leite e ovos (EL-SAYED et al., 2022).

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos de estrutura química complexa produzidas por fungos filamentosos, sendo os principais representantes os dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, e *Fusarium* (KUMAR et al., 2020). Atualmente, cerca de 25% dos produtos agrícolas produzidos no mundo estão contaminados com algum tipo de micotoxina (ESKOLA et al., 2020; EL-SAYED et al., 2022). A presença dessas substâncias nos alimentos

tem levado países importadores a elaborarem legislações cada vez mais rigorosas em relação aos níveis máximos permitidos (ESKOLA et al., 2020; BEN HASSOUNA et al., 2023).

Os efeitos tóxicos dessas substâncias são geralmente crônicos, de difícil associação com o consumo de alimentos contaminados. Os principais efeitos registrados são lesões renais, supressão do sistema imunológico e suscetibilidade ao câncer, em caso grave, também pode levar à morte (EL-SAYED et al., 2022).

Recentemente, foram identificados cerca de 100.000 fungos, dos quais mais de 500 micotoxinas são relatadas como potencialmente toxigênicas. As mais estudadas são as aflatoxinas (AFs), ocratoxina A (OTA), zearalenona (ZEA), tricotecenos (THs), patulina (PAT) e fumonisinas (FB), pois representam uma séria ameaça à agricultura, economia e segurança alimentar (HAQUE et al., 2020; BEN HASSOUNA et al., 2023).

Os limites regulatórios para micotoxinas em alimentos e rações são estabelecidos por diversas autoridades em todo o mundo, como nos Estados Unidos (EUA) pela *Food and Drug Administration* (FDA), na União Europeia (UE) pela *European Food Safety Authority* (EFSA) (AGRIOPOULOU et al., 2020) e no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2022). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece limites máximos tolerados (LMT) para aflatoxinas (AFs), ocratoxina (OTA), fumonisinas (FB), zearalenona (ZEA), desoxinivalenol (DON) e patulina (PAT) admissíveis nos alimentos. No entanto, para feijões e outras sementes secas de leguminosas, há LMT apenas para aflatoxinas B₁ + B₂ + G₁ + G₂ (5 µg/kg) e Ocratoxina A (10 µg/kg).

Fatores extrínsecos como água, temperatura, pH e composição gasosa do ambiente têm uma profunda influência no crescimento de fungos toxigênicos e na biossíntese de micotoxinas (KUMAR et al., 2020). Segundo os autores, temperaturas altas para atingir o máximo de crescimento fúngico (acima de 25 °C), além da necessidade de elevada disponibilidade de água livre ($a_w > 0,85$) são condições ótimas para colonização e produção de toxinas.

As espécies do gênero *Fusarium* podem sintetizar diferentes micotoxinas, sendo as mais importantes do ponto de vista toxicológico os tricotecenos, zearalenona e fumonisinas (BEN HASSOUNA et al., 2023). As micotoxinas podem causar efeitos cancerígenos, mutagênicos, teratogênicos, citotóxicos, neurotóxicos, nefrotóxicos, estrogênicos, dermatotóxicos e imunotóxicos, além de sintomas clínicos, como diarreia, hemorragia, sinais nervosos e perda de peso (PITT; MILLER, 2017).

3.7. Fumonisinias

As fumonisinias são micotoxinas de baixo peso molecular produzidas por várias espécies de *Fusarium*, principalmente *F. verticillioides*, *F. proliferatum* e outras espécies do gênero (RHEEDER et al., 2002; ZHOU et al., 2018). São divididas em quatro grupos principais identificados como séries A, B, C e P (RHEEDER et al., 2002; BRAUN; WINK, 2018).

Dentre as fumonisinias, as da série B (FB₁; FB₂ e FB₃) são as de ocorrência natural mais abundante e as mais importantes, sendo a FB₁ predominante e normalmente encontrada nos níveis mais elevados em torno de 70 a 80% do total de fumonisinias (RHEEDER et al., 2002).

Foram identificadas pela primeira vez por Gelderblom et al. (1988) através do isolamento de FB₁ e FB₂ de culturas de *F. moniliforme* MCR 826 (atualmente denominado *F. verticillioides*) as quais têm atividade promotora de câncer em fígado de ratos (GELDERBLOM et al., 1988).

É sabido que essas micotoxinas são, predominantemente, produzidas por espécies de *Fusarium*. Pesquisas mais recentes mostram que outras fumonisinias como a FB₆, uma nova fumonisina isolada em conjunto com FB₂, de culturas estacionárias de *Aspergillus niger* pode ser produzida em altos níveis por algumas estirpes do patógeno, em meio ágar, com baixa atividade de água (MANSSON et al., 2010; VARGA et al., 2010; ABRUNHOSA et al., 2011).

Semelhante a outras culturas agrícolas, as leguminosas podem ser infectadas por fungos no campo e durante a pós-colheita (ACUÑA-GUTIÉRREZ et al., 2022). Como a produção de fumonisina e o crescimento de *Fusarium* spp., são resultados de interações com diversos fatores bióticos e abióticos, ela pode ocorrer em qualquer fase do cultivo, colheita ou armazenamento, e persiste no grão mesmo quando os fungos envolvidos na sua produção não estão mais presentes (KAMLE et al., 2019).

Devido à alta estabilidade molecular das micotoxinas e baixa reatividade com outras macromoléculas, não há como eliminar completamente essas substâncias de alimentos destinados ao consumo humano e animal (KAMLE et al., 2019). No entanto, encontram-se na literatura várias estratégias de redução das concentrações de algumas micotoxinas com métodos físicos (limpeza, triagem, irradiação, tratamento térmico, controle de temperatura e umidade), químicos (tratamentos alcalinos e com ozônio ou agentes antifúngicos) e biológicos (bactérias, leveduras e fungos) (WIELOGORSKA et al., 2019; LIU et al., 2022). Apesar de algumas técnicas terem alcançado bons resultados, acabam tendo algumas desvantagens, como alto custo, eficácia limitada, perda do valor nutricional e palatabilidade dos alimentos, além dos efeitos tóxicos dos resíduos após tratamento (LIU et al., 2022).

Sabe-se que as fumonisinas são altamente estáveis ao calor e afetadas apenas quando aquecidas acima de 150 - 200 °C durante técnicas de processamento de alimentos como cozimento, fritura, torrefação ou cozimento por extrusão (KAMLE et al., 2019). Portanto, é um desafio removê-las do processamento comum de grãos para atender aos padrões aceitáveis para o consumo humano (QU et al., 2022).

Diversos métodos podem ser utilizados para reduzir a contaminação por fumonisinas e outras micotoxinas, como físicos, químicos e biológicos (LIU et al., 2022). Segundo os autores, a secagem dos grãos por meio do tratamento térmico e sua conservação sem umidade tem sido a principal medida de controle em condições pós-colheita. Outros tratamentos como separação, lavagem e irradiação também tem apresentado resultados promissores. O controle químico utilizando bases e agentes oxidantes e biológico com microrganismos e enzimas, são apontados como importantes alternativas.

Além desses métodos, o uso de nanotecnologia e engenharia genética deve ser implementado na agricultura para desenvolver variedades resistentes à infecção por *Fusarium* spp. e a contaminação por fumonisinas. Assim, o manejo integrado combinando diferentes estratégias de controle, parece ser a melhor opção (KAMLE et al., 2019).

Atualmente, há uma grande demanda por tecnologias moleculares para detectar fungos toxigênicos em alimentos (WANG et al., 2023). Os genes que atuam na biossíntese das micotoxinas estão agrupados em *clusters*, sendo o *cluster FUM* o responsável pela síntese das fumonisinas. Portanto, entender a capacidade de biossíntese dessas toxinas em isolados de *Fusarium* pode auxiliar na detecção precoce e nas medidas de controle (QIU et al., 2020).

3.8. Biossíntese da fumonisina

A regulação da biossíntese das micotoxinas é um processo complexo que envolve diversos fatores ambientais que formam uma rede reguladora hierárquica, incluindo reguladores específicos da via, reguladores globais e modificações epigenéticas (LYU et al., 2020).

Nos fungos filamentosos encontram-se genes agrupados em *clusters* envolvidos na biossíntese de metabólitos secundários, sendo o *cluster FUM* responsável pela síntese das fumonisinas (KAMLE et al., 2019; LI et al., 2022). Em *F. verticillioides*, o *cluster* de genes biossintéticos da fumonisina, ou *cluster FUM*, é composto por 17 genes, com comprimento 42 kb (GIL-SERNA et al., 2020).

Em outras espécies de *Fusarium* e algumas estirpes de *F. verticillioides*, o *cluster FUM* consiste em apenas 15 ou 16 genes funcionais. Por exemplo, o gene *FUM20* é um pequeno gene que se acredita codificar uma proteína contendo 40 aminoácidos de função desconhecida e

ocorre em *F. verticillioides* e nas espécies com homólogos de *cluster* FUM estreitamente relacionados. No entanto, *FUM20* não está presente nos homólogos de *cluster* FUM mais distantemente relacionados em *F. fujikuroi* e *F. proliferatum* (NIEHAUS et al., 2016).

Além disso, *FUM20* está ausente e *FUM17* está presente como um pseudogene em homólogos de *cluster* FUM em membros do clado asiático do complexo de espécies *F. fujikuroi* (NIEHAUS et al., 2016). O gene *FUM1* codifica um policetídeo sintase, que catalisa a condensação de nove unidades de acetato e duas unidades de metila para produzir um policetídeo linear com 18 carbonos de comprimento que forma a maior parte da estrutura principal das fumonisinas (YU et al., 2005).

Os níveis de transcrição de genes-chave numa via biossintética são frequentemente considerados como um indicador da produção de metabolitos, como é o caso do gene *FUM1*, que codifica a primeira enzima na via metabólica que leva à produção das fumonisinas. Seus níveis de transcrição na célula são considerados como um indicador de atividade em toda a via *FUM* e do acúmulo na biomassa fúngica (KAMLE et al., 2019; LI et al., 2022).

Um α -oxoamina sintase, codificado pelo gene *FUM8*, catalisa então a condensação do policetídeo e da alanina para formar o esqueleto de 20 carbonos da fumonisina com uma amina em C2 (DU et al., 2008). A hidroxilação do produto da condensação policetídeo-aminoácido em C14 e C15 é catalisada pela citocromo P450 monooxigenase e redutase, codificada por *FUM6* (BOJJA et al., 2004; PROCTOR et al., 2008).

Após a hidroxilação adicional em C10 ser catalisada por *FUM2* no citocromo P450 monooxigenase (PROCTOR et al., 2006), *FUM14* (peptídeo não-ribossomal sintase), *FUM7* (álcool desidrogenase) e *FUM10* (Acil-CoA sintetase/Acil-proteína sintetase) catalisam a formação icônica dos grupos éster tricarbálico em C14 e C15 das fumonisinas com a ajuda de *FUM11* (transportador de ácido tricarbóxico) (BUTCHKO et al., 2006; ZALETA-RIVERA et al., 2006; HUFFMAN et al., 2010). No final do processo, o esqueleto da fumonisina é hidroxilado em C5, catalisado por *FUM3* (dioxigenase) (DING et al., 2004).

O *cluster* FUM e as funções são compartilhadas entre as espécies de *Fusarium*, com exceção de que mutações naturais podem ocorrer em um ou mais genes FUM de algumas estirpes de *F. fujikuroi* e *F. verticillioides* (PROCTOR et al., 2006; SULTANA et al., 2021). No entanto, para a formação dos três análogos de fumonisina de ocorrência mais comum (FB₁, FB₂ e FB₃) *FUM15–FUM19* não são necessários (BUTCHKO et al., 2006; PROCTOR et al., 2006; SUN et al., 2019; JANEVSKA et al., 2020).

É importante ressaltar que este é o primeiro estudo que envolve a expressão do gene *FUM* em espécies de *Fusarium* associadas às sementes de sementes de feijão-fava. Neste

sentido, a utilização de métodos moleculares para identificação de espécies e perfil toxigênico de *Fusarium* spp., pode auxiliar na adoção de medidas de controle e prevenção da contaminação por fumonisinas (KAMLE et al., 2019).

REFERÊNCIAS

- ABRUNHOSA, L.; CALADO, T.; RESENDE, T.; VENÂNCIO, A. A fluorescence-LC method with NDA pre-column derivatization for fumonisin B2 determination in black *Aspergilli* cultures. **Journal of liquid chromatography & related technologies**, v. 34, n. 15, p. 1594-1603, 2011.
- ACUÑA-GUTIÉRREZ, C.; JIMÉNEZ, V. M.; MÜLLER, J. Occurrence of mycotoxins in pulses. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 5, p. 4002-4017, 2022.
- ADEBO, J. A. A review on the potential food application of lima beans (*Phaseolus lunatus* L.), an underutilized crop. **Applied Sciences**, v. 13, n. 3, p. 1-19, 2023.
- AGRIOPOULOU, S.; STAMATELOPOULOU, E.; VARZAKAS, T. Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: Prevention and detoxification in foods. **Foods**, v. 9, n. 2, p. 1-48, 2020.
- ASSUNÇÃO FILHO, J. R.; COSTA, M. F.; PINHEIRO, J. B.; CARVALHO, L. C. B.; FERREIRA-GOMES, R. L.; LOPES, Â. C. A. Selection of superior genotypes of lima bean landraces by multivariate approach. **Revista Caatinga**, v. 35, n. 1, p. 87-95, 2022.
- ASSUNÇÃO NETO, W. V. et al. Selection of landraces of lima bean for family agriculture. **Revista Caatinga**, 35:137-147, 2022.
- ASSUNÇÃO, I. P.; NASCIMENTO, L. D.; FERREIRA, M. F.; OLIVEIRA, F. J.; MICHEREFF, S. J.; LIMA, G. S. Reaction of faba bean genotypes to *Rhizoctonia solani* and resistance stability. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 492-497, 2011.
- ASTORECA, A. L.; EMATEGUY, L. G.; ALCONADA, T. M. Fungal contamination and mycotoxins associated with sorghum crop: its relevance today. **European Journal of Plant Pathology**, v. 155, p. 381-392, 2019.
- BAHADUR, A. Current status of *Fusarium* and their management strategies. In: MIRMAJLESSI, S. M. **Fusarium - An overview on current status of the genus**. Intech Open Book Series, 2021. cap. 4, p. 1-17.
- BARRETO, G. G.; SANTOS, A. C. S.; PORCINO, M. M.; MATERATSKI, P.; VARANDA, C.; ROSÁRIO FÉLIX, M.; NASCIMENTO, L. C. Antagonism of *Trichoderma* on the control of *Fusarium* spp. on *Phaseolus lunatus* L. **Acta Brasiliensis**, v. 5, n. 2, p. 57-64, 2021.
- BEN HASSOUNA, K.; BEN SALAH-ABBES, J.; CHAIEB, K.; ABBÈS, S. Mycotoxins occurrence in milk and cereals in North African countries-a review. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 52, n. 8, p. 619-635, 2023.
- BESERRA-JÚNIOR, J. E. A.; BARGUIL, B. M. Feijão-fava: doenças virais e fúngicas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 27, p. 138-153, 2021.
- BITOCCHI, E.; RAU, D.; BELLUCCI, E.; RODRIGUEZ, M.; MURGIA, M. L.; GIOIA, T.; SANTO, D.; NANNI, L.; ATTENE, G.; PAPA, R. Beans (*Phaseolus* spp.) as a model for understanding crop evolution. **Frontiers in plant science**, v. 8 p. 1-22, 2017.

- BOJJA, R. S.; CERNY, R. L.; PROCTOR, R. H.; DU, L. Determining the biosynthetic sequence in the early steps of the fumonisin pathway by use of three gene-disruption mutants of *Fusarium verticillioides*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 10, p. 2855-2860, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Instrução Normativa - IN N° 160, DE 1° de Julho de 2022: (Anexo II - Limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 2022. 33p.
- BRAUN, M. S.; WINK, M. Exposure, occurrence, and chemistry of fumonisins and their cryptic derivatives. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 17, n. 3, p. 769-791, 2018.
- BRIA, E. J.; SUHARYANTO, E.; PURNOMO, P. Variability and intra-specific classification of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) from timor island based on morphological characters. **Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology**. v. 4, p. 62-71, 2019.
- BUTCHKO, R. A.; PLATTNER, R. D.; PROCTOR, R. H. Deletion analysis of FUM genes involved in tricarballic ester formation during fumonisin biosynthesis. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 25, p. 9398-9404, 2006.
- CARDOSO, A. I. I.; PIACENTI, L. Z.; LINO, P. R.; PADOVAN, I. M.; KRONKA, A. Z. Control of *Alternaria brassicicola* with thermotherapy and propolis and effect on the physiological quality of kale seeds. **Horticultura Brasileira**, v. 38, n. 4, p. 363-369, 2020.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. FUNEP, Jaboticabal, Brasil. 2012. 590 p.
- CAVALCANTE, G. R.; BARGUIL, B. M.; VIEIRA, W. A.; LIMA, W. G.; MICHEREFF, S. J.; DOYLE, V. P.; CÂMARA, M. P. Diversity, prevalence, and virulence of *Colletotrichum* species associated with lima bean in Brazil. **Plant disease**, v. 103, n. 8, p. 1961-1966, 2019.
- CHEN, Y.; KISTLER, H. C.; MA, Z. *Fusarium graminearum* trichothecene mycotoxins: biosynthesis, regulation, and management. **Annual Review of Phytopathology**, v. 57, p. 15-39, 2019.
- CUNHA, R. P.; CARVALHO, I. L.; OLSEN, D.; VIEIRA, J. F.; SOARES, V. N.; TUNES, L. M. Termoterapia no controle de patógenos associados às sementes de abóbora. **Revista Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 11, n. 2, p. 53-57, 2017.
- DÍAZ-NÁJERA, J. F.; AYVAR-SERNA, S.; MENA-BAHENA, A.; BARANDA-CRUZ, E.; VARGAS-HERNÁNDEZ, M.; ALVARADO-GÓMEZ, O. G.; FUENTES-ARAGÓN, D. First report of *Fusarium falciforme* (FSSC 3+ 4) causing wilt disease of *Phaseolus vulgaris* in Mexico. **Plant Disease**, v. 105, n. 3, p. 710-710, 2021.
- DING, Y.; BOJJA, R. S.; DU, L. Fum3p, a 2-ketoglutarate-dependent dioxygenase required for C-5 hydroxylation of fumonisins in *Fusarium verticillioides*. **Applied and environmental microbiology**, v. 70, n. 4, p. 1931-1934, 2004.

DOURADO, G. F.; SILVA, M. S. B. S.; OLIVEIRA, A. C. S.; SILVA, E. K. C.; OLIVEIRA, L. J. M. G.; RODRIGUES, A. A. C. Alternative seed treatment methods for plant pathogen control in sweet pepper crops. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 15, n. 3, p. 1-10, 2020.

DU, L.; ZHU, X.; GERBER, R.; HUFFMAN, J.; LOU, L.; JORGENSEN, J.; YU, F.; ZALETA-RIVERA, K.; WANG, Q. Biosynthesis of sphinganine-analog mycotoxins. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 6, p. 455-464, 2008.

EL-SAYED, R. A.; JEBUR, A. B.; KANG, W.; EL-ESAWI, M. A.; EL-DEMERDASH, F. M. An overview on the major mycotoxins in food products: characteristics, toxicity, and analysis. **Journal of Future Foods**, v. 2, n. 2, p. 91-102, 2022.

ESKOLA, M.; KOS, G.; ELLIOTT, C. T.; HAJŠLOVÁ, J.; MAYAR, S.; KRŠKA, R. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25%. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 60, n. 16, p. 2773-2789, 2020.

FANELLI, F.; IVERSEN, A.; LOGRIECO, A. F.; MULÈ, G. Relationship between fumonisin production and FUM gene expression in *Fusarium verticillioides* under different environmental conditions. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 30, n. 2, p. 365-371, 2013.

FARINDE, E. O.; OLANIPEKUN, O. T.; OLASUPO, R. B. Nutritional composition and antinutrients content of raw and processed lima bean (*Phaseolus lunatus*). **Annals of Food Science and Technology**, v. 19, n. 2, p. 250-264, 2018.

GARCIA, T.; DUITAMA, J.; ZULLO, S. S.; GIL, J.; ARIANI, A.; DOHLE, S.; PALKOVIC A.; SKEEN P.; BERMUDEZ-SANTANA C. I.; DEBOUCK, D. G.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J.; GEPTS, P.; CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I. Comprehensive genomic resources related to domestication and crop improvement traits in lima bean. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 1-17, 2021.

GARCIA-CELA, E.; VERHEECKE-VAESSEN, C.; ÓSK-JÓNSDÓTTIR, I.; LAWSON, R.; MAGAN, N. Growth kinetic parameters and prediction of growth and zearalenone and deoxynivalenol production boundaries by three *Fusarium asiaticum* strains isolated from wheat. **Fermentation**, v. 8, n. 11, p. 1-15, 2022.

GEBEYAW, M. Review on: Impact of seed-borne pathogens on seed quality. **American Journal of Plant Biology**, v. 5, n. 4, p. 79-83, 2020.

GELDERBLOM, W. C.; JASKIEWICZ, K.; MARASAS, W. F.; THIEL, P. G.; HORAK, R. M.; VLEGGAR, R.; KRIEK, N. Fumonisin-novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. **Applied and environmental microbiology**, v. 54, n. 7, p. 1806-1811, 1988.

GIL-SERNA, J.; VAZQUEZ, C.; PATINO, B. Genetic regulation of aflatoxin, ochratoxin A, trichothecene, and fumonisin biosynthesis: A review. **International Microbiology**, v. 23, p. 89-96, 2020.

GRANJA, M. B.; VITORINO, P. J. P.; SOUSA, V. F. O.; RODRIGUES, M. H. B. S.; DINIZ, G. L.; ANDRADE, F. H. A.; NOBRE, R. G. Variedades de feijão-fava submetidas à níveis de salinidade e adubação orgânica. **Colloquium Agrariae**, v. 15, n. 1, p. 104-114, 2019.

HAQUE, M. A.; WANG, Y.; SHEN, Z.; LI, X.; SALEEMI, M. K.; HE, C. Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: A review. **Microbial pathogenesis**, v. 142, p. 1-12, 2020.

HUFFMAN, J.; GERBER, R.; DU, L. Recent advancements in the biosynthetic mechanisms for polyketide-derived mycotoxins. **Biopolymers**, v. 93, v. 9, p. 764-776, 2010.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2023. **Produção Agrícola Municipal: Culturas temporárias e permanentes**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612>>. Acesso em: 20 jan. 2024.

INDEX FUNGORUM. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>>. Acesso em: 15 de abril de 2023.

JADON, K. S.; THIRUMALAISAMY, P. P.; KUMAR, R. Major seed-borne diseases in important pulses: Symptomatology, aetiology and economic importance. In: KUMAR, R.; GUPTA, A. **Seed-borne diseases of agricultural crops: Detection, diagnosis & management**. Singapore: Springer Singapore, 2020. cap. 18, p. 469-542.

JANEVSKA, S.; FERLING, I.; JOJIĆ, K.; RAUTSCHEK, J.; HOEFGEN, S.; PROCTOR, R. H.; HILLMANN, F.; VALIANTE, V. Self-protection against the sphingolipid biosynthesis inhibitor fumonisin B₁ is conferred by a *FUM* cluster-encoded ceramide synthase. **Mbio**, v. 11, n. 3, p. 1-17, 2020.

JESÚS PIRES, C.; COSTA, M. F.; ZUCCHI, M. I.; FERREIRA-GOMES, R. L.; PINHEIRO, J. B.; VIANA, J. P. G.; BAJAY, M. M.; ASSUNÇÃO-FILHO, J. R.; LOPES, A. C. A. Genetic diversity in accessions of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) determined from agro-morphological descriptors and SSR markers for use in breeding programs in Brazil. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 69, p. 973-986, 2022.

KAMIL, D.; TOPPO, R. S.; DEVI, T. P.; KUMARI, A. Diversity of seed-borne fungal phytopathogens. In: KUMAR, R.; GUPTA, A. **Seed-borne diseases of agricultural crops: Detection, diagnosis & management**. Singapore: Springer Singapore, 2020. cap. 12, p. 293-306.

KAMLE, M.; MAHATO, D. K.; DEVI, S.; LEE, K. E.; KANG, S. G.; KUMAR, P. Fumonisin: Impact on agriculture, food, and human health and their management strategies. **Toxins**, v. 11, n. 6, p. 1-23, 2019.

KUMAR, S.; SINHA, A.; KUMAR, R.; SINGH, V.; HOODA, K. S.; NATH, K. Storage fungi and mycotoxins. In: KUMAR, R.; GUPTA, A. **Seed-borne diseases of agricultural crops: Detection, diagnosis & management**. Singapore: Springer Singapore, 2020. cap. 29, p. 821-861.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* laboratory manual**. 6. ed. Ames: Blackwell Publishing. 2006. 388p.

LI, T.; SU, X.; QU, H.; DUAN, X.; JIANG, Y. Biosynthesis, regulation, and biological significance of fumonisins in fungi: current status and prospects. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 450-462, 2022.

LIU, M.; ZHAO, L.; GONG, G.; ZHANG, L.; SHI, L.; DAI, J.; HAN, Y.; WU, Y.; KHALIL, M. M.; SUN, L. Invited review: Remediation strategies for mycotoxin control in feed. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 13, n. 1, p. 1-16, 2022.

LOMBARD, L.; SANDOVAL-DENIS, M.; LAMPRECHT, S. C.; CROUS, P. W. Epitypification of *Fusarium oxysporum*-clearing the taxonomic chaos. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 43, n. 1, p. 1-47, 2019.

LU, Y.; QIU, J.; WANG, S.; XU, J.; MA, G.; SHI, J.; BAO, Z. Species diversity and toxigenic potential of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex isolates from rice and soybean in China. **Plant Disease**, v. 105, n. 9, p. 2628-2636, 2021.

LUCENA, F. T.; ALMEIDA, F. A.; TORRES JUNIOR, G. A.; LEITE, M. L. T.; FONSECA, W. L.; CARDOSO, T. A. L. Reaction of lima bean accessions to *Meloidogyne javanica*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 48, n. 1, p. 36-42, 2018.

LUSTOSA-SILVA, J. D.; OLIVEIRA, E. G.; COSTA SOARES, L. A.; FERREIRA-GOMES, R. L.; COSTA, A. F.; BARROS, R. F. M.; ALMEIDA, R. C.; SILVA, V. B.; COSTA, M. F.; ALMEIDA LOPES, Â. C. Traditional varieties of lima beans (*Phaseolus Lunatus* L.) in northeastern Brazilian farms: conservation and sustainability. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 70, p. 1-12, 2023.

LYU, H. N.; LIU, H. W.; KELLER, N. P.; YIN, W. B. Harnessing diverse transcriptional regulators for natural product discovery in fungi. **Natural Product Reports**, v. 37, n. 1, p. 6-16, 2020.

MACHADO, E. O.; FERRAZ, G. V.; ALMEIDA, R. C.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; SILVA, V. B. Evaluation of lima bean accessions at high temperatures. **Revista Caatinga**, v. 35, n. 4, p. 791-798, 2022.

MACIEL, M. H. C.; AMARAL, A. C. T.; SILVA, T. D.; BEZERRA, J. D. P.; SOUZAMOTTA, C. M.; COSTA, A. F.; TIAGO, P. V.; OLIVEIRA, N. T. Evaluation of mycotoxin production and phytopathogenicity of the entomopathogenic fungi *Fusarium caatingaense* and *F. pernambucanum* from Brazil. **Current Microbiology**, v. 78, n. 4, p. 1218-1226, 2021.

MANCINI, V.; MUROLO, S.; ROMANAZZI, G. Diagnostic methods for detecting fungal pathogens on vegetable seeds. **Plant Pathology**, v. 65, n. 5, p. 691-703, 2016.

MANSSON, M.; KLEJNSTRUP, M. L.; PHIPPS, R. K.; NIELSEN, K. F.; FRISVAD, J. C.; GOTFREDSEN, C. H.; LARSEN, T. O. Isolation and NMR characterization of fumonisin B2 and a new fumonisin B6 from *Aspergillus niger*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 2, p. 949-953, 2010.

MARTÍN, I.; GÁLVEZ, L.; GUASCH, L.; PALMERO, D. Fungal pathogens and seed storage in the dry state. **Plants**, v. 11, n. 22, p. 3167, 2022.

MARTÍNEZ-NIETO, M. I.; ESTRELLES, E.; PRIETO-MOSSI, J.; ROSELLÓ, J.; SORIANO, P. Resilience capacity assessment of the traditional Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces facing climate change. **Agronomy**, v. 10, n. 6, p. 1-15, 2020.

MEDEIROS, J. G. F.; FONTES, I. C. G.; SILVA, E. C.; SANTOS, P. D.; RODRIGUES, R. M. Controle de fungos e qualidade fisiológica de sementes de soja (*Glycine max* L.) submetidas ao calor húmido. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 464-471, 2019.

MIELNICZUK, E.; SKWARYŁO-BEDNARZ, B. Fusarium head blight, mycotoxins and strategies for their reduction. **Agronomy**, v. 10, n. 4, p. 1-26, 2020.

MOTA, J. M.; MELO, M. P.; SILVA, F. F. S.; SOUSA, E. M. J.; SOUSA, E. S., BARGUIL, B. M.; BESERRA-JÚNIOR, J. E. A. Fungal diversity in lima bean seeds. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 11, n. 1, p. 79-87, 2017.

MOTA, J. M.; MELO, M. P.; GARCÍA, M. F. M.; SOUSA, E. S.; SOUSA, E. M. J.; BARGUIL, B. M.; BESERRA-JÚNIOR, J. E. A. Transmission of *Colletotrichum truncatum* and *Macrophomina phaseolina* by lima bean seeds. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 1, p. 33-37, 2019.

NIEHAUS, E. M.; MÜNSTERKÖTTER, M.; PROCTOR, R. H.; BROWN, D. W.; SHARON, A.; IDAN, Y.; OREN-YOUNG, L.; SIEBER, C. M.; NOVÁK, O.; PĚNČÍK, A.; TARKOWSKÁ, D.; HROMADOVÁ, K.; FREEMAN, S.; MAYMON, M.; ELAZAR, M.; YOUSSEF, S. A.; EL-SHABRAWY, E. S. M.; SHALABY, A. B. A.; HOUTERMAN, P.; BROCK, N. L.; BURKHARDT, I.; TSAVKELOVA, E. A.; DICKSCHAT, J. S.; GALUSZKA, P.; GÜLDENER, U.; TUDZYNSKI, B. Comparative “omics” of the *Fusarium fujikuroi* species complex highlights differences in genetic potential and metabolite synthesis. **Genome Biology and Evolution**, v. 8, n. 11, p. 3574-3599, 2016.

NIKITIN, D. A.; IVANOVA, E. A.; SEMENOV, M. V.; ZHELEZOVA, A. D.; KSENOFONTOVA, N. A.; TKHAKAKHOVA, A. K.; KHOLODOV, V. A. Diversity, ecological characteristics and identification of some problematic phytopathogenic *Fusarium* in Soil: A Review. **Diversity**, v. 15, n. 1, p. 1-18, 2023.

NOGUEIRA, G. A.; CONRADO, V. S. C.; FREIRES, A. L. A.; SOUZA, J. J. F.; FIGUEIREDO, F. R. A.; BARROSO, K. A.; ARAÚJO, M. B. M.; NASCIMENTO, L. V.; LIMA, J. S. S.; NETO, F. B.; SILVA, W. L.; AMBRÓSIO, M. M. Q. Aggressivity of different *Fusarium* species causing fruit rot in melons in Brazil. **Plant Disease**, v. 107, n. 3, p. 886-892, 2023.

O'DONNELL, K.; WARD, T. J.; ROBERT, V. A.; CROUS, P. W.; GEISER, D. M.; KANG, S. DNA sequence-based identification of *Fusarium*: Current status and future directions. **Phytoparasitica**, v. 43, n. 5, p. 583-595, 2015.

PEREIRA-FILHO, T. B.; MARINI, F. S.; FREITAS, M. S. M.; PEREIRA, E. M. Macro- and micronutrient content in native varieties of *Phaseolus lunatus* L. fertilized with rock dust. **Australian Journal of Crop Science**, v. 16, n. 11, p. 1217-1223, 2022.

PITT, J. I.; MILLER, J. D. A concise history of mycotoxin research. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 65, n. 33, p. 7021-7033, 2017.

PROCTOR, R. H.; BUSMAN, M.; SEO, J. A.; LEE, Y. W.; PLATTNER, R. D. A fumonisin biosynthetic gene cluster in *Fusarium oxysporum* strain O-1890 and the genetic basis for B versus C fumonisin production. **Fungal Genetics and Biology**, v. 45, n. 6, p. 1016-1026, 2008.

PROCTOR, R. H.; PLATTNER, R. D.; DESJARDINS, A. E.; BUSMAN, M.; BUTCHKO, R. A. Fumonisin production in the maize pathogen *Fusarium verticillioides*: genetic basis of naturally occurring chemical variation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 6, p. 2424-2430, 2006.

QIU, J.; LU, Y.; HE, D.; LEE, Y. W.; JI, F.; XU, J.; SHI, J. *Fusarium fujikuroi* species complex associated with rice, maize, and soybean from Jiangsu Province, China: Phylogenetic, pathogenic, and toxigenic analysis. **Plant Disease**, v. 104, n. 8, p. 2193-2201, 2020.

QU, L.; WANG, L.; JI, H.; FANG, Y.; LEI, P.; ZHANG, X.; JIN, L.; SUN, D.; DONG, H. Toxic mechanism and biological detoxification of fumonisins. **Toxins**, v. 14, n. 3, p. 1-21, 2022.

REVERBERI, M.; RICELLI, A.; ZJALIC, S.; FABBRI, A. A.; FANELLI, C. Natural functions of mycotoxins and control of their biosynthesis in fungi. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 87, p. 899-911, 2010.

RHEEDER, J. P.; MARASAS, W. F.; VISMER, H. F. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 5, p. 2101-2105, 2002.

SÁ, F. V. S.; OLIVEIRA, F. S.; TORRES, S. B.; PAIVA, E. P.; NOGUEIRA, N. W.; SARMENTO, E. C. S.; MELO, A. S. Hydric and saline stress on *Phaseolus lunatus* L. seeds. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, n. 1, p. 1-3, 2022.

SAMPAIO, A. M.; ARAÚJO, S. S.; RUBIALES, D.; VAZ PATTO, M. C. *Fusarium* wilt management in legume crops. **Agronomy**, v. 10, n. 8, p. 1-25, 2020.

SÁNCHEZ-NAVARRO, V.; ZORNOZA, R.; FAZ, Á.; FERNÁNDEZ, J. A. Comparing legumes for use in multiple cropping to enhance soil organic carbon, soil fertility, aggregates stability and vegetables yields under semi-arid conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 246, p. 835-841, 2019.

SARWADNYA, K.; BHAT, G.; BANGI, S.; JEEVITHA, D.; SHIVAKUMAR, G.; MADALAGERI, B. B.; NOOJIBAIL, P.; ANANDALAKSHMI, R. First report of *Fusarium falciforme* causing basal rot of onion (*Allium cepa*) in India. **Plant Disease**, v. 107, n. 1, p. 228-228, 2023.

SILVA, J. A.; OLIVEIRA, M. G.; SOUZA, L. T.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. A.; MICHEREFF, S. J. Reação de genótipos de feijão-fava a *Sclerotium rolfsii*. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 98-101, 2014.

SILVA, S. I. A.; SOUZA, T.; SANTOS, D.; SOUZA, R. F. S. Avaliação dos componentes de produção em variedades crioulas de fava cultivadas no Agreste da Paraíba. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 3, p. 731-742, 2019.

SOUSA E. S.; SILVA, J. R. A.; ASSUNÇÃO, I. P.; MELO, M. P.; FEIJÓ, F. M, MATOS K. S.; BESERRA-JÚNIOR, J. E. A. *Colletotrichum* species causing anthracnose on lima bean in Brazil. **Tropical plant pathology**, v. 43, p. 78-84, 2018.

SOUSA, E. S.; MELO, M. P.; MOTA, J. M.; SOUSA, E. M. J.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A.; MATOS, K. S. First report of *Fusarium falciforme* (FSSC 3+ 4) causing root rot in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Brazil. **Plant Disease**, v. 101, n. 11, p. 1954-1954, 2017.

SOUSA, R. R.; OSÓRIO, P. R. A.; NOSÉ, N. P.; ARRUDA, G. L.; FERREIRA, T. P. S.; HAESBAERT, F. M.; SANTOS, G. R. Detection and transmission of *Fusarium verticillioides* in corn seeds according to the plant stage. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 44, p. 1-11, 2022.

SOUZA, J. S.; RODRIGUES, L. N.; SOUZA, J. T.; SALES, L. A.; NASCIMENTO, N. F. F. Caracterização morfoagronômica de feijão fava. In: Congresso Técnico Científico de Engenharia e Agronomia, 73, 2016, Foz no Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: CONTECC, 2016.

SRIVASTAVA, S.; KUMAR, R.; BINDAL, S.; SINGH, V. P.; RANA, M.; SINGH, J. P.; SINHA, A. Ancient, mid-time, and recent history of seed pathology. In: KUMAR, R.; GUPTA, A. **Seed-borne diseases of agricultural crops: Detection, diagnosis & management**. Singapore: Springer Singapore, 2020. cap. 4, p. 81-103.

STĘPIEŃ, L. Plant-pathogenic *Fusarium* species. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 1, p. 1-3, 2023.

SULTANA, S.; BAO, W. X.; SHIMIZU, M.; KAGEYAMA, K.; SUGA, H. Frequency of three mutations in the fumonisin biosynthetic gene cluster of *Fusarium fujikuroi* that are predicted to block fumonisin production. **World Mycotoxin Journal**, v. 14, n. 1, p. 49-59, 2021.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* laboratory manual**. 1. ed. Ames: Blackwell Publishing, 2006. 388p.

SUMMERELL, B. A. Resolving *Fusarium*: current status of the genus. **Annual review of phytopathology**, v. 57, n. 1, p. 323-339, 2019.

SUMMERELL, B. A.; LESLIE, J. F. Fifty years of *Fusarium*: how could nine species have ever been enough?. **Fungal Diversity**, v. 50, p. 135-144, 2011.

SUMMERELL, B. A.; SALLEH, B.; LESLIE, J. F. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. **Plant disease**, v. 87, n. 2, p. 117-128, 2003.

SUN, L.; CHEN, X.; GAO, J.; ZHAO, Y.; LIU, L.; HOU, Y.; WANG, L.; HUANG, S. Effects of disruption of five FUM genes on fumonisin biosynthesis and pathogenicity in *Fusarium proliferatum*. **Toxins**, v. 11, n. 6, p. 327, 2019.

TEMEGNE, N.C.; TSOATA, E.; NGOME, A. F. E.; TONFACK, L. B.; AGENDIA, A. P.; YOUMBI, E. Lima bean. In: PRATAP, A.; GUPTA, S. (Eds.). **The beans and the peas: From orphan to mainstream crops**. Duxford, UK: Woodhead Publishing, 2021. cap. 7, p. 133-152.

VARGA, J.; KOCSUBÉ, S.; SURI, K.; SZIGETI, G. Y.; SZEKERES, A.; VARGA, M.; TÓTH, B.; BARTÓK, T. Fumonisin contamination and fumonisin producing black *Aspergilli* in dried vine fruits of different origin. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, n. 3, p. 143-149, 2010.

VIEIRA, H.; MARTINS, J. V. S., BARRETO, G. G.; GOMES, R. S. S.; SILVA, E. C.; NASCIMENTO, L. C. Sanitary and physiological quality of 'purple' corn (*Zea mays* L.) seeds submitted to thermotherapy. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, n. e1222018, p. 1-7, 2019.

WANG, W.; LIANG, X.; LI, Y.; WANG, P.; KELLER, N. P. Genetic regulation of mycotoxin biosynthesis. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 1, p. 1-17, 2023.

WIELOGORSKA, E.; AHMED, Y.; MENEELY, J.; GRAHAM, W.G.; ELLIOTT, C. T.; GILMORE, B. F. A holistic study to understand the detoxification of mycotoxins in maize and impact on its molecular integrity using cold atmospheric plasma treatment. **Food Chemistry**, v. 301, p. 1-8, 2019.

XU, F.; FENG, C.; LIU, L.; SHI, R.; HAN, S.; SONG, Y.; WANG, J.; HAN, Z.; ZHANG, J.; LI, Y.; LI, L.; YANG, G. Q. First report of *Fusarium falciforme* causing root rot of soybean (*Glycine max* L.) in Henan, China. **Plant Disease**, v. 106, n. 12, p. 1-6, 2022.

YU, F.; ZHU, X.; DU, L. Developing a genetic system for functional manipulations of FUM1, a polyketide synthase gene for the biosynthesis of fumonisins in *Fusarium verticillioides*. **FEMS microbiology letters**, v. 248, n. 2, p. 257-264, 2005.

ZALETA-RIVERA, K.; XU, C.; YU, F.; BUTCHKO, R. A.; PROCTOR, R. H.; HIDALGO-LARA, M. E.; RAZA, A.; DUSSAULT, P. H.; DU, L. A bidomain nonribosomal peptide synthetase encoded by *FUM14* catalyzes the formation of tricarballic esters in the biosynthesis of fumonisins. **Biochemistry**, v. 45, n. 8, p. 2561-2569, 2006.

ZHOU, D.; WANG, X.; CHEN, G.; SUN, S.; YANG, Y.; ZHU, Z.; DUAN, C. The major *Fusarium* species causing maize ear and kernel rot and their toxigenicity in Chongqing, China. **Toxins**, v. 10, n. 2, p. 90, 2018.

CAPÍTULO II

QUALIDADE DE SEMENTES DE FEIJÃO-FAVA SUBMETIDAS À TERMOTERAPIA

SILVA, E. C. **Qualidade de sementes de feijão-fava submetidas à termoterapia.** (Doutorado em Agronomia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba. Areia, PB. 2024.

RESUMO

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é uma cultura que se destaca por sua importância socioeconômica, principalmente na região Nordeste do Brasil. A ocorrência de fungos associados às sementes pode levar à redução do potencial fisiológico, originando plântulas menos vigorosas. Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da termoterapia, via calor úmido, na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão-fava. Foram utilizadas sementes de seis variedades tradicionais: Branca, Cearense, Cara Larga, Orelha de Vó, Roxinha e Orelha de Veia, as quais foram submetidas aos tratamentos controle (sem tratamento), fungicida Captana (240 g 100 kg⁻¹ de sementes) e termoterapia úmida à 40, 50 e 60 °C por 5 e 10 minutos de imersão e realizados os testes de sanidade, germinação e emergência. A termoterapia a 40 °C por 5 e 10 minutos foi a melhor opção nas condições testadas para reduzir a incidência de *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* sp., sem afetar a qualidade fisiológica das sementes. As sementes das variedades Branca, Cearense e Orelha de Veia, apresentaram maior sensibilidade ao estresse térmico quando expostas ao calor úmido a 60 °C por 10 minutos, com redução na porcentagem de germinação, emergência e aumento de sementes mortas.

Palavras-chave: Patologia de sementes; qualidade fisiológica; controle alternativo; tratamento térmico; *Phaseolus lunatus* L.

SILVA, E. C. **Quality of lima bean seeds submitted to thermotherapy.** (Doctorate in Agronomy). Postgraduate Program in Agronomy of Federal University of Paraíba, Areia, PB. 2024.

ABSTRACT

The lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is a crop that stands out for its socioeconomic importance, especially in the Brazil's Northeast. The fungi occurrence on seeds can reduce physiological potential, resulting in less vigorous seedlings. The objective of this study was to evaluate the thermotherapy effect, via moist thermotherapy, on the sanitary and physiological quality of lima bean seeds. Seeds of six traditional lima beans varieties were used: Branca, Cearense, Cara Larga, Orelha de Vó, Roxinha and Orelha de Veia, which were subjected to control treatments (without treatment), Captana fungicide (240 g 100 kg⁻¹ of seeds) and humid thermotherapy at 40, 50 and 60 °C for 5 and 10 minutes of immersion and sanitary, germination and emergence tests were performed. Thermotherapy at 40 °C for 5 and 10 minutes was the best option under the conditions tested to reduce *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. and *Penicillium* sp. incidence without affecting the seeds physiological quality. The seeds of Branca, Cearense and Orelha de Veia varieties showed greater sensitivity to thermal stress when exposed to humid thermotherapy at 60 °C for 10 minutes, with a reduction in the percentage of germination, emergence and an increase in dead seeds.

Keywords: Seed pathology; physiological quality; alternative control; heat treatment; *Phaseolus lunatus* L.

1. INTRODUÇÃO

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é uma cultura que se destaca por sua importância socioeconômica em todo o mundo, com destaque no Nordeste do Brasil (LUSTOSA-SILVA et al., 2022). Considerada a segunda leguminosa mais importante do gênero *Phaseolus*, suas sementes contêm altos níveis de proteínas, carboidratos e lipídios, tornando-se uma excelente opção alimentar e fonte de renda para agricultores da região (ASSUNÇÃO NETO et al., 2022).

Na safra 2023, foram produzidos no Brasil 10.372 toneladas de grãos secos, numa área colhida de 33.153 ha com rendimento médio de 313 Kg/ha. Desse total a região Nordeste foi responsável por 10.266 toneladas em uma área colhida de 33.045 ha com rendimento médio de 311 Kg/ha. Os estados do Ceará (3.514 toneladas) e Paraíba (3.260 toneladas) se destaca como maiores produtores concentrando mais da metade da produção nacional (IBGE, 2024).

Um dos fatores que afeta a produtividade da cultura é a ocorrência de doenças fúngicas, que, associadas às condições ambientais favoráveis, pode afetar qualquer estágio de desenvolvimento da cultura, provocando redução no estande de plantas no campo, necrose de folhas e caule, podridão radicular, murcha e baixa qualidade de sementes (MARTÍN et al., 2022). Além disso, sementes infectadas podem introduzir ou disseminar patógenos para novas áreas de cultivo, o que reforça a necessidade de medidas preventivas, como o tratamento de sementes (MOTA et al., 2017; BESERRA-JÚNIOR; BARGUIL, 2021).

A qualidade sanitária das sementes é determinada pela presença ou ausência de patógenos que causam danos durante o armazenamento, ou que são transmitidos via sementes, causando doenças e reduções na produtividade (MOTA et al., 2017; GEBEYAW, 2020). Os fungos são os principais microrganismos associados às sementes, tanto em condições de campo, como na pós-colheita e durante o armazenamento. Nesta última fase, podem provocar perda do poder germinativo, deterioração e aquecimento da massa de sementes, gerando aumento da taxa respiratória e produção de micotoxinas (MARTÍN et al., 2022).

O controle químico tem sido a principal estratégia utilizada no tratamento de sementes (PENIDO et al., 2021), no entanto, a procura por métodos alternativos garantem uma maior segurança ao meio ambiente e a saúde humana, principalmente aqueles à base de metabólitos secundários (óleos essenciais ou extratos vegetais), controle biológico e tratamento físico (termoterapia) (MEDEIROS et al., 2019; FARIAS et al., 2020; BÄNZIGER et al., 2022).

O uso do tratamento térmico, via calor úmido, tem sido utilizado para o controle de patógenos que se encontram aderidos à superfície ou no interior das sementes. Diversos autores já relataram resultados promissores com o uso da termoterapia no controle de fungos associados às sementes de diversas culturas como soja (*Glycine max* L.) (MEDEIROS et al., 2019), milho

(*Zea mays* L.) (VIEIRA et al., 2019) e couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) (CARDOSO et al., 2020). No entanto, a eficiência da termoterapia é fundamentada na sensibilidade diferencial entre a semente e o patógeno, em relação a intensidade do calor necessário para controle do mesmo (ORLOVIĆ et al., 2021). Nesse caso, a termoterapia pode consistir numa alternativa promissora para o manejo de doenças associadas às sementes de feijão-fava. Para o sucesso do tratamento é necessário o conhecimento das relações tempo-temperatura letais aos patógenos, bem como seu efeito na qualidade fisiológica das sementes (CARDOSO et al., 2020).

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar o efeito da termoterapia, via calor úmido, na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão-fava.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia (LAFIT) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, Areia, PB. Foram utilizadas sementes de seis variedades tradicionais de feijão-fava: Branca, Cearense e Orelha de Veia (Alagoa Grande, PB), Cara Larga e Roxinha (Remígio, PB) e Orelha de Vó (Areia, PB), provenientes de agricultores familiares da safra 2019 (Figura 1). Após a aquisição, as sementes foram beneficiadas e acondicionadas em garrafas de polietileno tereftalato (PETs) sob refrigeração (5 °C) por aproximadamente 45 dias.

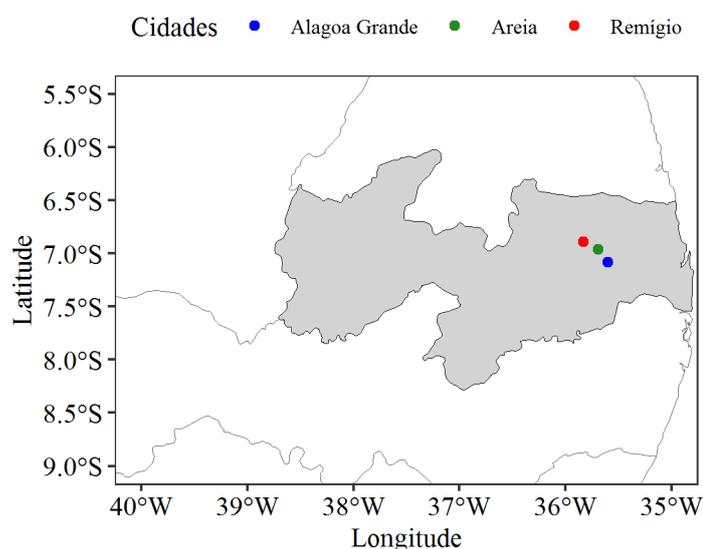


Figura 1 - Local de coleta das sementes de feijão-fava. Fonte: SILVA, E. C. (2024).

Determinação do teor de água nas sementes

O teor de água foi determinado pelo método da estufa a 105 ± 3 °C por 24 horas, utilizando-se quatro repetições de 10 g de sementes para cada variedade, sendo os resultados expressos em porcentagem (BRASIL, 2009).

Descrição dos tratamentos

A sementes foram previamente desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (1%) por três minutos, lavadas em água destilada esterilizada (ADE) e secas sobre papel toalha à temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Em seguida, sementes das variedades Branca, Cearense, Orelha de Veia, Cara Larga, Roxinha e Orelha de Vó, foram acondicionadas em Becker de vidro, de 250 mL, contendo ADE e mantidas em banho-maria (Kacil BM-02) com água aquecida à temperatura de 40, 50 e 60 °C por 5 e 10 minutos. O fungicida Captana, na proporção 240 g/100 kg de sementes, foi utilizado como controle positivo e sementes sem tratamento foram consideradas controle negativo.

Teste de sanidade

Para análise sanitária foi utilizado o método de incubação em substrato de papel-filtro - *Blotter test* (BRASIL, 2009) utilizando-se 100 sementes por tratamento, distribuídas em 10 repetições de 10 sementes. A incubação foi realizada em placas de Petri (90 x 15 mm), contendo dupla camada de papel filtro esterilizado, umedecido com ADE e mantidas em incubação durante sete dias a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. A identificação dos gêneros fúngicos foi realizada com auxílio de microscópio óptico e literatura especializada (SEIFERT et al., 2011), sendo os resultados expressos em porcentagem para cada fungo identificado.

Teste de germinação

O teste de germinação foi conduzido em germinador do tipo B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*), regulado à 25 °C com fotoperíodo de 12 horas (BRASIL, 2009). Foram utilizadas quatro repetições com 25 sementes por tratamento, distribuídas sobre duas folhas de papel, tipo Germitest[®] previamente esterilizado, umedecido com ADE na quantidade equivalente a 2,5 vezes o seu peso seco. Em seguida, foram cobertas com uma terceira folha e organizadas em forma de rolos que foram acondicionados em sacos plásticos transparentes para evitar a perda de água por evaporação. As contagens de sementes germinadas foram realizadas diariamente, do quinto até o nono dia após a incubação e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais. Ao nono dia de avaliação, foi contabilizada a porcentagem de plântulas normais, anormais, sementes mortas e duras (BRASIL, 2009).

Teste de emergência

O teste de emergência foi conduzido em casa de vegetação, utilizando quatro repetições de 25 sementes por tratamento, semeadas em areia previamente esterilizada em autoclave por duas vezes, em intervalos de 24 h a 121 °C por uma hora, a uma profundidade de três centímetros, em bandejas de polietileno (48 x 33 x 8 cm). A manutenção da umidade foi realizada diariamente, com quantidade de água equivalente a 60% da sua capacidade de

retenção. A contagem de plântulas emergidas foi realizada diariamente, do sexto até o nono dia após o plantio e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais emergidas.

Índice de velocidade de germinação (IVG) e emergência (IVE)

Foi realizado conjuntamente com os testes de germinação e emergência, contabilizando-se diariamente o número de sementes germinadas e plântulas normais emergidas, durante nove dias, cujos índices foram determinados de acordo com a equação proposta por Maguire (1962).

Comprimento e matéria seca da parte aérea e raízes

Ao término das avaliações, plântulas normais (emissão de raiz primária e parte aérea) de cada tratamento foram separadas em parte aérea e sistema radicular, medindo-se com auxílio de uma régua a parte aérea desde a inserção da plúmula até a inserção das raízes. Para avaliação do sistema radicular foi mensurada toda a estrutura da raiz primária, sendo os resultados expressos em cm plântula⁻¹. As raízes e partes aéreas foram acondicionadas em sacos de papel tipo Kraft e secas em estufa a 65 °C até obtenção de um peso constante (72 h). Decorrido esse período, as amostras foram pesadas em balança analítica, com precisão de 0,001 g, e os resultados expressos em g plântula⁻¹ (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com os tratamentos organizados no esquema fatorial 6 x 8 correspondendo a seis variedades tradicionais de feijão-fava e oito tratamentos. Os dados foram submetidos aos testes de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (Bartlett).

Para as variáveis que não atenderam os pressupostos (incidência de fungos, sementes mortas e plântulas anormais) os dados foram previamente transformados em $\sqrt{x + 1}$, conforme descrito por Bartlett (1947). A análise estatística foi realizada com o software estatístico R[®] (R CORE TEAM, 2023) e as médias submetidas à análise de variância (ANOVA) pelo teste F, comparando-as entre si pelo teste de Scott-Knott até o nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o teor de água das sementes, observou-se diferença significativa entre as variedades de feijão-fava, em que o maior valor foi verificado na variedade Branca, seguido pelas variedades Cearense e Orelha de Vó. Por outro lado, as variedades Cara Larga e Orelha de Veia apresentaram valores inferiores, não diferindo entre si, com exceção da Roxinha com menor teor de umidade (Tabela 1).

Tabela 1 - Teor de água em sementes tradicionais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.).

Variedades	Umidade (%)
Branca	14,06 a
Cara Larga	12,46 c
Cearense	13,30 b
Orelha de Veia	12,49 c
Orelha de Vó	13,28 b
Roxinha	11,48 d
CV (%)	2,25

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Segundo Almeida et al. (2014) quando as sementes se encontram com grau de umidade entre 11 a 13%, o processo respiratório é baixo, evitando-se assim a deterioração e perda da qualidade fisiológica. Por outro lado, Carvalho e Nakagawa (2012) relatam que teor de água entre 12 e 14%, ainda há respiração ativa das sementes, o que causa perdas do vigor e do poder germinativo, além de favorecer o desenvolvimento de fungos e produção de micotoxinas. Deste modo, é provável que o teor de água nas sementes tenha favorecido a alta incidência de fungos de armazenamento, principalmente os dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (Tabela 2).

O teor de água das sementes é um fator importante para a realização de testes fisiológicos, por isso a uniformização da umidade em diferentes lotes, é imprescindível para a padronização e obtenção de resultados consistentes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012), garantindo a manutenção da qualidade das sementes durante o armazenamento, com redução das atividades bioquímicas e de microrganismos patogênicos (GAUTAM et al., 2022).

Na análise sanitária das sementes de feijão-fava foram identificados os fungos *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* sp. *Rhizoctonia* sp. e *Colletotrichum* sp. A interação entre variedades e tratamentos exerceu efeito significativo sobre a incidência dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (Tabela 2).

Em relação a incidência de *Aspergillus* sp., nas sementes da variedade Branca, constatou-se que os tratamentos foram eficientes quando comparados à testemunha, com exceção da temperatura de 40 °C por 10 minutos. Na variedade Cearense, a termoterapia à 60 °C por cinco e dez minutos de imersão foi eficaz na redução do patógeno, não diferindo do fungicida. Para as variedades Cara Larga, Orelha de Vó, Roxinha e Orelha de Veia, observou-se que todos tratamentos foram eficientes quando comparados à testemunha (Tabela 2).

A maior incidência de *Penicillium* sp., na variedade Branca foi à 40 °C por 10 minutos, não diferindo da testemunha. A termoterapia à 40 °C por 5 minutos, 50 e 60 °C por 5 e 10 minutos, reduziram significativamente sua incidência. Na variedade Cara Larga à temperatura de 40 °C, independente do tempo de exposição, favoreceu o desenvolvimento de *Penicillium*

sp., em relação aos demais tratamentos. A provável causa para essa incidência pode estar relacionada à contaminação das sementes durante a secagem, já que não foi constatada a presença do fungo entre os demais tratamentos. Devido à baixa incidência de *Penicillium* sp., nas sementes das variedades Cearense, Roxinha e Orelha de Veia, não foi constatada diferença entre os tratamentos. Já na variedade Orelha de Vó, a termoterapia foi eficiente quando comparada à testemunha (Tabela 2).

Tabela 2 - Incidência de fungos em sementes de variedades tradicionais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) submetidas à termoterapia via calor úmido.

Tratamentos	CBR	CCE	CCL	COV	CRX	CVE
----- <i>Aspergillus</i> spp. (%)-----						
Testemunha	42,0 Aa	13,0 Ca	36,0 Aa	15,0 Ca	26,0 Ba	24,0 Ba
Captana	2,0 Bc	1,0 Bb	0,0 Bd	0,0 Bb	12,0 Ab	11,0 Ab
40 °C/5 min.	8,0 Bb	8,0 Ba	27,0 Ab	0,0 Cb	1,0 Cc	10,0 Bb
40 °C/10 min.	44,0 Aa	6,0 Ca	19,0 Bb	0,0 Cb	0,0 Cc	5,0 Cb
50 °C/5 min.	11,0 Ab	5,0 Ba	12,0 Ac	3,0 Bb	0,0 Bc	8,0 Ab
50 °C/10 min.	4,0 Cc	7,0 Ca	23,0 Ab	0,0 Cb	4,0 Cc	14,0 Bb
60 °C/5 min.	1,0 Ac	3,0 Ab	9,0 Ac	0,0 Ab	0,0 Ac	4,0 Ab
60 °C/10 min.	0,0 Ac	0,0 Ab	7,0 Ac	0,0 Ab	0,0 Ac	5,0 Ab
CV (%)	23,89					
----- <i>Penicillium</i> sp. (%)-----						
Testemunha	23,0 Aa	1,0 Ca	0,0 Cb	7,0 Ba	1,0 Ca	0,0 Ca
Captana	0,0 Ad	0,0 Aa	0,0 Ab	0,0 Ab	0,0 Aa	0,0 Aa
40 °C/5 min.	8,0 Ab	0,0 Ba	5,0 Aa	0,0 Bb	0,0 Ba	3,0 Ba
40 °C/10 min.	21,0 Aa	1,0 Ba	2,0 Ba	0,0 Bb	0,0 Ba	0,0 Ba
50 °C/5 min.	4,0 Ac	0,0 Aa	0,0 Ab	0,0 Ab	0,0 Aa	2,0 Aa
50 °C/10 min.	2,0 Ad	3,0 Aa	0,0 Ab	0,0 Ab	0,0 Aa	3,0 Aa
60 °C/5 min.	0,0 Ad	0,0 Aa	0,0 Ab	0,0 Ab	0,0 Aa	1,0 Aa
60 °C/10 min.	0,0 Ad	0,0 Aa	0,0 Ab	0,0 Ab	0,0 Aa	1,0 Aa
CV (%)	13,55					
----- <i>Fusarium</i> spp. (%)-----						
Testemunha	6,0 Aa	0,0 Ba	0,0 Ba	9,0 Ab	0,0 Bb	1,0 Ba
Captana	0,0 Ab	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Ac	0,0 Ab	0,0 Aa
40 °C/5 min.	6,0 Aa	0,0 Ba	0,0 Ba	1,0 Bc	0,0 Bb	1,0 Ba
40 °C/10 min.	4,0 Aa	0,0 Ba	0,0 Ba	2,0 Ac	0,0 Bb	0,0 Ba
50 °C/5 min.	1,0 Bb	0,0 Ba	0,0 Ba	7,0 Ab	0,0 Bb	0,0 Ba
50 °C/10 min.	5,0 Ba	0,0 Ca	3,0 Ba	16,0 Aa	13,0 Aa	0,0 Ca
60 °C/5 min.	0,0 Ab	0,0 Aa	0,0 Aa	3,0 Ac	0,0 Ab	0,0 Aa
60 °C/10 min.	0,0 Ab	0,0 Aa	0,0 Aa	3,0 Ac	0,0 Ab	0,0 Aa
CV (%)	13,45					

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha são estatisticamente iguais pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Dados transformados em $\sqrt{y+1}$. CBR: Branca, CCE: Cearense, CCL: Cara Larga, COV: Orelha de Vó, CRX: Roxinha e CVE: Orelha de Veia. Testemunha (água destilada esterilizada – ADE), Fungicida Captana (240 g 100 kg⁻¹ de sementes).

As temperaturas de 50 °C por cinco minutos e 60 °C nos dois tempos de imersão, reduziram significativamente a incidência de *Fusarium* sp., nas sementes da variedade Branca, não diferindo do fungicida. Tal fato também foi observado nas sementes da variedade Orelha

de Vó tratadas à 40 e 60 °C por cinco e dez minutos de imersão. No entanto, nas variedades Orelha de Vó e Roxinha, o calor úmido à 50 °C por 10 minutos, favoreceu o desenvolvimento do patógeno, diferindo dos demais tratamentos. Devido à baixa incidência de *Fusarium* sp., nas variedades Cearense, Cara Larga e Orelha de Veia não foi evidenciado efeito significativo dos tratamentos (Tabela 2).

Em estudo realizado por Medeiros et al. (2019), com termoterapia a 40, 50 e 60 °C por 5 e 10 minutos de imersão, não obtiveram resultados satisfatórios no controle de *Penicillium* spp., *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* em sementes de soja (*Glycine max* L.). No entanto, os tratamentos foram eficientes no controle de *Colletotrichum* sp. e *Rhizoctonia* spp., com exceção de *Fusarium* spp., que foi erradicado a partir de 50 °C, independente do tempo de exposição. Vieira et al. (2019) observaram que a temperatura a 50, 60 e 70 °C durante 1, 2 e 3 minutos de imersão foi suficiente para reduzir a incidência de *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. *Fusarium* sp. em sementes de milho (*Zea mays* L.). Esses estudos demonstram que o uso do tratamento térmico é uma alternativa promissora para o controle de fungos em sementes e corroboram com esta pesquisa.

Os principais gêneros fúngicos envolvidos com a perda da qualidade de sementes durante o armazenamento são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, os quais podem ser responsáveis por danos como perda do desempenho germinativo, descoloração do tegumento, aumento da taxa de ácidos graxos, aquecimento da massa de sementes e produção de micotoxinas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; LIMA et al., 2022). *Cladosporium* sp. também está associado à deterioração de sementes em condições inadequadas de armazenamento (MOTA et al., 2017). Além de *Colletotrichum truncatum*, outros gêneros foram identificados infectando sementes de feijão-fava, dentre os quais importantes fungos fitopatogênicos como *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium* sp. (BESERRA-JÚNIOR; BARGUIL, 2021).

A termoterapia tem efeito direto sobre a atividade celular dos patógenos, onde o mecanismo de ação, provável responsável pela morte em alta temperatura, seja a desnaturação de proteínas e enzimas, que são fundamentais para o metabolismo celular (FRANÇOSO; BARBEDO, 2016). Esses autores ainda constataram que a resistência de *Fusarium* spp. ao tratamento térmico pode estar relacionada à formação de clamidósporos, estruturas de resistência formadas sob condições desfavoráveis. O gênero *Fusarium* é constituído, na sua maioria, por espécies patogênicas, responsáveis por causar danos a diversas espécies cultivadas, inclusive no feijão-fava (MOTA et al., 2017; BESERRA-JÚNIOR; BARGUIL, 2021). A ocorrência de *Fusarium* sp., nas sementes, mesmo em baixa incidência, pode ocasionar sérios

prejuízos em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura. Além disso, sementes infectadas podem introduzir ou disseminar o patógeno para novas áreas de cultivo (MOTA et al., 2017). Além de causar tombamento, *Fusarium* spp. são agentes causais da murcha de fusário ou fusariose, podendo causar podridão radicular e murcha em plantas de feijão-fava (SOUSA et al. 2017).

Para as variáveis, primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GE) e índice de velocidade de germinação (IVG), foi observada interação significativa entre variedades e tratamentos analisados (Tabela 3).

Tabela 3 - Primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GE) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes tradicionais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) submetidas a termoterapia via calor úmido.

Tratamentos	CBR	CCE	CCL	COV	CRX	CVE
	-----PCG (%)-----					
Testemunha	80,0 Ba	92,0 Aa	98,0 Aa	98,0 Aa	92,0 Aa	93,0 Aa
Captana	83,0 Ba	91,0 Ba	99,0 Aa	100,0 Aa	88,0 Ba	94,0 Aa
40 °C/5 min.	72,0 Bb	95,0 Aa	93,0 Aa	97,0 Aa	91,0 Aa	88,0 Aa
40 °C/10 min.	81,0 Ba	91,0 Ba	96,0 Aa	97,0 Aa	89,0 Ba	88,0 Ba
50 °C/5 min.	88,0 Ba	90,0 Ba	98,0 Aa	97,0 Aa	93,0 Aa	86,0 Ba
50 °C/10 min.	67,0 Cb	89,0 Ba	94,0 Aa	99,0 Aa	99,0 Aa	87,0 Ba
60 °C/5 min.	70,0 Cb	83,0 Ca	95,0 Aa	100,0 Aa	94,0 Aa	82,0 Ca
60 °C/10 min.	46,0 Dc	57,0 Cb	91,0 Aa	97,0 Aa	97,0 Aa	69,0 Bb
CV (%)	6,63					
Tratamentos	-----GE (%)-----					
	CBR	CCE	CCL	COV	CRX	CVE
Testemunha	81,0 Ba	94,0 Aa	99,0 Aa	98,0 Aa	94,0 Aa	94,0 Aa
Captana	85,0 Ba	91,0 Ba	99,0 Aa	100,0 Aa	92,0 Ba	98,0 Aa
40 °C/5 min.	73,0 Bb	96,0 Aa	94,0 Aa	98,0 Aa	92,0 Aa	90,0 Ab
40 °C/10 min.	84,0 Ba	92,0 Aa	96,0 Aa	97,0 Aa	91,0 Aa	92,0 Aa
50 °C/5 min.	88,0 Ba	90,0 Ba	99,0 Aa	97,0 Aa	94,0 Aa	90,0 Bb
50 °C/10 min.	68,0 Cb	89,0 Ba	96,0 Aa	99,0 Aa	99,0 Aa	87,0 Bb
60 °C/5 min.	71,0 Cb	83,0 Ba	96,0 Aa	100,0 Aa	95,0 Aa	84,0 Bb
60 °C/10 min.	46,0 Dc	61,0 Cb	93,0 Aa	97,0 Aa	98,0 Aa	70,0 Bc
CV (%)	6,00					
Tratamentos	-----IVG-----					
	CBR	CCE	CCL	COV	CRX	CVE
Testemunha	6,60 Ea	10,72 Cb	12,61 Bb	16,83 Aa	8,24 Db	8,51 Db
Captana	6,36 Eb	10,83 Cb	12,17 Bb	17,38 Aa	8,30 Db	7,95 Db
40 °C/5 min.	5,69 Eb	10,86 Cb	13,70 Ba	16,07 Ab	8,34 Db	8,53 Db
40 °C/10 min.	7,49 Da	12,44 Ba	12,75 Bb	15,83 Ab	8,08 Db	9,51 Ca
50 °C/5 min.	7,09 Ea	11,33 Cb	13,36 Ba	14,75 Ac	9,10 Da	9,32 Da
50 °C/10 min.	6,26 Eb	11,56 Cb	13,10 Ba	15,79 Ab	9,67 Da	9,82 Da
60 °C/5 min.	5,59 Cb	9,22 Bc	13,07 Aa	13,83 Ac	8,73 Bb	9,61 Ba
60 °C/10 min.	3,42 Ec	6,82 Dd	12,35 Bb	14,62 Ac	9,07 Ca	6,23 Dc
CV (%)	6,67					

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha são estatisticamente iguais pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). CBR: Branca, CCE: Cearense, CCL: Cara Larga, COV: Orelha de Vó, CRX: Roxinha e CVE: Orelha de Veia. Testemunha (água destilada esterilizada – ADE), Fungicida Captana (240 g 100 kg⁻¹ de sementes).

Ao analisar a PCG e GE na variedade Branca, verificou-se que as temperaturas a 40 °C por 10 minutos e 50 °C por 5 minutos não afetaram a qualidade fisiológica das sementes quando comparadas à testemunha e fungicida (Tabela 3). Quando aumentou o tempo de exposição das sementes ao calor úmido, na temperatura de 60 °C, observou-se que a taxa de germinação foi reduzida drasticamente, sendo o único tratamento a influenciar negativamente nas variedades Cearense e Orelha de Veia. Nas variedades Cara Larga, Orelha de Vó e Roxinha não foi observada diferença estatística entre os tratamentos analisados.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi afetado negativamente pela exposição das sementes das variedades Branca e Orelha de Veia ao calor úmido de 60 °C por 10 minutos, diferindo dos demais tratamentos. Comportamento similar foi observado na variedade Cearense em todos os tempos de imersão e na Orelha de Vó a 50 °C por 5 minutos e 60 °C em todos os tempos de imersão (Tabela 3). As alterações metabólicas provocadas pela exposição das sementes ao tratamento térmico podem causar inicialmente inibição do desempenho germinativo levando a queda drástica na germinação (MENEGAES et al., 2019).

Apesar das características individuais de cada variedade, foi constatada na avaliação de vigor, que a temperatura de 40 °C por 5 minutos, promoveu incremento no IVG da variedade Cara Larga. Resultados semelhantes foram observados quando o tempo de exposição foi 10 minutos para as variedades Cearense e Orelha de Veia. Na temperatura de 50 °C durante cinco e dez minutos de imersão, nas variedades Cara Larga, Roxinha e Orelha de Veia, observou-se aumento da germinação (Tabela 3).

O percentual de sementes mortas (SM) e plântulas anormais (PAN) foi influenciado pela interação entre variedades e tratamentos (Tabela 4). A termoterapia à 60 °C por 10 minutos de imersão, proporcionou os maiores valores incidentes de SM nas variedades Branca, Cearense e Orelha de Veia, diferindo dos demais tratamentos. Em relação as variedades Cara Larga, Orelha de Vó e Roxinha, nenhuma das temperaturas utilizadas diferiu da testemunha e fungicida, não influenciando no percentual de sementes mortas. Para o percentual de sementes duras, não foi observada diferença estatística, com valores variando entre 1 e 4%.

O percentual de plântulas anormais (PAN) nas variedades Cearense, Cara Larga, Orelha de Vó e Roxinha não foi influenciado pelos tratamentos térmicos, apresentando resultados semelhantes aos da testemunha ou do tratamento com fungicida (Tabela 4).

Na variedade Branca, a temperatura de 40 °C por 5 minutos de imersão promoveu incremento no percentual de PAN quando comparado aos demais tratamentos, não diferindo do fungicida. Já na Orelha de Veia, observou-se que as temperaturas à 40 °C por 10 minutos, 50 e 60 °C durante cinco minutos, proporcionaram os maiores percentuais de PAN em relação aos

demais tratamentos, o que pode estar relacionado a uma maior sensibilidade das sementes à termoterapia (Tabela 4).

Tabela 4 - Percentual de sementes mortas (SM) e plântulas anormais (PAN) oriundas de sementes tradicionais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) submetidas à termoterapia via calor úmido.

Tratamentos	CBR	CCE	CCL	COV	CRX	CVE
	-----SM (%)-----					
Testemunha	19,0 Ac	4,0 Bc	0,0 Ca	0,0 Ca	3,0 Ba	5,0 Bc
Captana	11,0 Ac	4,0 Bc	1,0 Ba	0,0 Ba	0,0 Ba	1,0 Bc
40 °C/5 min.	20,0 Ac	4,0 Cc	0,0 Ca	0,0 Ca	1,0 Ca	9,0 Bb
40 °C/10 min.	14,0 Ac	2,0 Bc	2,0 Ba	0,0 Ba	2,0 Ba	3,0 Bc
50 °C/5 min.	12,0 Ac	6,0 Bc	0,0 Ca	0,0 Ca	0,0 Ca	6,0 Bc
50 °C/10 min.	32,0 Ab	10,0 Bb	2,0 Ca	0,0 Ca	0,0 Ca	11,0 Bb
60 °C/5 min.	29,0 Ab	13,0 Bb	1,0 Ca	0,0 Ca	2,0 Ca	9,0 Bb
60 °C/10 min.	54,0 Aa	33,0 Ba	4,0 Ca	2,0 Ca	0,0 Ca	30,0 Ba
CV (%)	29,98					
-----PAN (%)-----						
Testemunha	0,0 Ab	2,0 Aa	1,0 Aa	2,0 Aa	1,0 Aa	1,0 Ab
Captana	4,0 Aa	5,0 Aa	0,0 Ba	0,0 Ba	5,0 Aa	1,0 Bb
40 °C/5 min.	7,0 Aa	0,0 Ba	6,0 Aa	2,0 Ba	3,0 Ba	1,0 Bb
40 °C/10 min.	2,0 Ab	6,0 Aa	2,0 Aa	3,0 Aa	3,0 Aa	5,0 Aa
50 °C/5 min.	0,0 Ab	3,0 Aa	1,0 Aa	3,0 Aa	3,0 Aa	4,0 Aa
50 °C/10 min.	0,0 Ab	1,0 Aa	2,0 Aa	1,0 Aa	1,0 Aa	2,0 Ab
60 °C/5 min.	0,0 Bb	4,0 Aa	3,0 Ba	0,0 Ba	2,0 Ba	7,0 Aa
60 °C/10 min.	0,0 Ab	5,0 Aa	3,0 Aa	1,0 Aa	2,0 Aa	0,0 Ab
CV (%)	45,26					

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha são estatisticamente iguais pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). CBR: Branca, CCE: Cearense, CCL: Cara Larga, COV: Orelha de Vó, CRX: Roxinha e CVE: Orelha de Veia. Testemunha (água destilada esterilizada – ADE), Fungicida Captana (240 g 100 kg⁻¹ de sementes).

Quanto ao comprimento e massa seca da parte aérea e raízes (Tabela 5) observou-se interação significativa entre os fatores estudados. Para o comprimento da parte aérea (CPA) na variedade Branca, as temperaturas a 40 e 60 °C por 5 minutos, proporcionaram resultados superiores. Resultados semelhantes foram observados na variedade Orelha de Vó, a 60 °C, durante 10 minutos. Na variedade Cearense, o CPA foi reduzido apenas com a exposição das sementes a 50 e 60 °C durante 10 minutos. Da mesma forma, foi observado na variedade Roxinha a 40 e 50 °C por 10 minutos e na variedade Orelha de Veia a 40 e 50 °C por 5 minutos e 60 °C em todos os tempos de imersão. Na variedade Cara Larga, a exposição das sementes à termoterapia não comprometeu o CPA, tendo em vista que os tratamentos apresentaram resultados similares aos da testemunha ou do tratamento com fungicida (Tabela 5).

Tabela 5 - Comprimento da parte aérea (CPA), raiz (CPR), e matéria seca de parte aérea (MSA), raiz (MSR), oriundos do teste de germinação de sementes tradicionais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), submetidas à termoterapia via calor úmido.

Tratamentos	CBR	CCE	CCL	COV	CRX	CVE
-----CPA (cm plântula ⁻¹)-----						
Testemunha	7,55 Cb	9,86 Ba	12,36 Aa	7,26 Cc	11,18 Aa	7,68 Ca
Captana	9,03 Bb	9,02 Ba	10,69 Ab	8,32 Bb	11,72 Aa	8,78 Ba
40 °C/5 min.	11,48 Aa	9,25 Ba	10,84 Ab	6,45 Cc	11,35 Aa	4,44 Db
40 °C/10 min.	9,73 Ab	10,06 Aa	10,54 Ab	6,30 Cc	9,28 Ab	8,08 Ba
50 °C/5 min.	8,60 Cb	9,97 Ba	11,77 Aa	8,06 Cb	11,99 Aa	4,86 Db
50 °C/10 min.	9,40 Bb	4,73 Dc	12,39 Aa	6,84 Cc	9,85 Bb	7,78 Ca
60 °C/5 min.	10,97 Aa	9,02 Ba	12,42 Aa	7,13 Cc	12,21 Aa	5,23 Db
60 °C/10 min.	8,36 Cb	7,58 Cb	10,09 Bb	11,26 Aa	12,00 Aa	5,15 Db
CV (%)	11,50					
-----CPR (cm plântula ⁻¹)-----						
Testemunha	12,04 Cc	15,36 Bb	18,81 Aa	15,21 Ba	12,37 Ca	9,28 Db
Captana	15,98 Bb	17,03 Ba	19,08 Aa	15,14 Ca	12,09 Da	14,62 Ca
40 °C/5 min.	18,30 Aa	14,09 Bb	15,28 Bc	13,70 Ba	11,93 Ca	6,12 Dc
40 °C/10 min.	14,65 Bb	14,37 Bb	17,28 Ab	14,47 Ba	10,75 Ca	10,49 Cb
50 °C/5 min.	13,65 Bb	16,76 Aa	16,63 Ab	15,38 Aa	11,40 Ca	6,38 Dc
50 °C/10 min.	12,23 Bc	4,84 Ce	16,54 Ab	15,62 Aa	11,09 Ba	12,50 Ba
60 °C/5 min.	14,23 Ab	10,45 Bc	15,98 Ab	14,63 Aa	13,43 Aa	7,31 Cc
60 °C/10 min.	9,35 Bd	7,42 Bd	12,70 Ad	15,23 Aa	13,71 Aa	4,25 Cd
CV (%)	12,13					
-----MSA (g plântula ⁻¹)-----						
Testemunha	2,352 Ba	2,060 Bb	1,164 Ca	3,186 Ab	1,121 Ca	2,126 Ba
Captana	2,049 Bb	2,240 Bb	1,136 Ca	3,343 Ab	1,046 Ca	2,285 Ba
40 °C/5 min.	2,147 Bb	2,004 Bc	1,064 Ca	3,223 Ab	1,129 Ca	2,186 Ba
40 °C/10 min.	2,576 Ba	2,123 Cb	1,326 Da	3,304 Ab	1,195 Da	2,207 Ca
50 °C/5 min.	2,234 Bb	1,936 Bc	1,254 Ca	3,056 Ab	1,105 Ca	2,232 Ba
50 °C/10 min.	1,965 Bb	1,635 Cd	1,037 Da	3,711 Aa	1,141 Da	2,108 Ba
60 °C/5 min.	2,224 Bb	2,151 Bb	1,177 Ca	3,172 Ab	1,132 Ca	2,346 Ba
60 °C/10 min.	2,540 Ba	2,507 Ba	1,188 Ca	3,339 Ab	1,030 Ca	1,321 Cb
CV (%)	10,56					
-----MSR (g plântula ⁻¹)-----						
Testemunha	0,144 Bc	0,145 Ba	0,158 Ba	0,252 Aa	0,127 Ba	0,082 Ca
Captana	0,198 Ab	0,137 Ba	0,161 Aa	0,197 Ab	0,118 Ba	0,105 Ba
40 °C/5 min.	0,239 Aa	0,119 Ca	0,121 Cb	0,198 Bb	0,076 Db	0,044 Db
40 °C/10 min.	0,127 Bc	0,143 Ba	0,114 Bb	0,210 Ab	0,075 Cb	0,123 Ba
50 °C/5 min.	0,165 Bc	0,144 Ba	0,109 Cb	0,209 Ab	0,085 Cb	0,038 Db
50 °C/10 min.	0,125 Bc	0,024 Cb	0,118 Bb	0,218 Ab	0,082 Bb	0,097 Ba
60 °C/5 min.	0,232 Aa	0,124 Ba	0,099 Bb	0,248 Aa	0,104 Ba	0,057 Cb
60 °C/10 min.	0,153 Bc	0,100 Ca	0,106 Cb	0,274 Aa	0,110 Ca	0,035 Db
CV (%)	19,37					

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha são estatisticamente iguais pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). CBR: Branca, CCE: Cearense, CCL: Cara Larga, COV: Orelha de Vó, CRX: Roxinha e CVE: Orelha de Veia. Testemunha (água destilada esterilizada – ADE), Fungicida Captana (240 g 100 kg⁻¹ de sementes).

Quanto ao comprimento de raízes (CPR) nas variedades Branca, Cara Larga e Orelha de Veia, observou-se que o tratamento à 60 °C por 10 minutos promoveu valor significativamente inferior, diferindo dos demais tratamentos. Resultados semelhantes foram observados na

variedade Cearense a 50 e 60 °C durante 10 minutos. Nas variedades Orelha de Vó e Roxinha não foram verificadas diferenças entre os tratamentos analisados (Tabela 5). Provavelmente, o estresse térmico alterou o equilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e as enzimas de eliminação de ERO, reduzindo parcialmente a atividade metabólica necessária para continuar e estimular o crescimento radicular normal (RASHID et al., 2017).

Para a massa seca da parte aérea (MSA), observou-se que as sementes da variedade Branca tratadas com termoterapia não prejudicou o desenvolvimento das plântulas, apresentando resultados semelhantes aos da testemunha ou do tratamento com fungicida. No entanto, nas variedades Orelha de Vó e Cearense, foi observado que a exposição das sementes ao calor úmido à 50 e 60 °C por 10 minutos, respectivamente, promoveu incremento na MSA. Na variedade Orelha de Veia, a temperatura a 60 °C por 10 minutos, comprometeu a MSA, diferindo dos demais tratamentos. Para as variedades Cara Larga e Roxinha, não foram observadas diferenças entre os tratamentos analisados (Tabela 5).

Na massa seca de raízes (MSR), na variedade Branca, verificou-se que os tratamentos a 40 e 60 °C durante 5 minutos de imersão, proporcionaram os melhores resultados em relação aos demais tratamentos. Para a variedade Cearense, observou-se que a temperatura a 50 °C por 10 minutos proporcionou o menor conteúdo de MSR. Efeito semelhante foi observado na variedade Roxinha nas temperaturas a 40 e 50 °C em todos os tempos de imersão. Na variedade Cara Larga, a exposição das sementes à termoterapia proporcionou resultados inferiores aos da testemunha e fungicida (Tabela 5).

Para a variedade Orelha de Vó, não foi constatado danos fisiológicos nas sementes quando submetidas ao calor úmido, tendo em vista que o conteúdo de MSR foram semelhantes estatisticamente aos da testemunha ou do tratamento com fungicida. Na Orelha de Veia, as temperaturas de 40 e 50 °C durante 10 minutos de imersão, proporcionaram maior incremento de MSR, no entanto, não diferindo estatisticamente da testemunha e fungicida (Tabela 5).

Quanto aos parâmetros do teste de emergência (Tabela 6) observou-se efeito significativo da interação em todas as variáveis analisadas. O efeito da termoterapia sobre a primeira contagem (PCE) e porcentagem de emergência (EM) nas variedades Branca, Cearense e Orelha de Veia, demonstrou que o calor úmido a 60 °C durante 10 minutos, promoveu menos plântulas emergidas quando comparado aos demais tratamentos. Para as variáveis PCE e EM nas variedades Cara Larga e Orelha de Vó constatou-se que a termoterapia não influenciou negativamente no vigor das sementes, tendo em vista que os percentuais de plântulas emergidas foram estatisticamente semelhantes aos da testemunha ou do tratamento com fungicida.

Na variedade Roxinha, os tratamentos a 40 e 50 °C, em todos os tempos de imersão e 60 °C durante 10 minutos, proporcionaram plântulas mais vigorosas na PCE em relação aos demais tratamentos. Para a EM não houve diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 6).

Tabela 6 - Primeira contagem de emergência (PCE), emergência (EM), índice de velocidade de emergência (IVE) e plântulas anormais (PAN) oriundos de sementes tradicionais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) submetidas à termoterapia via calor úmido.

Tratamentos	CBR	CCE	CCL	COV	CRX	CVE
	-----PCE (%)-----					
Testemunha	17,0 Cb	50,0 Ba	68,0 Aa	68,0 Ab	65,0 Ab	53,0 Ba
Captana	58,0 Ca	54,0 Ca	78,0 Ba	95,0 Aa	61,0 Cb	48,0 Ca
40 °C/5 min.	64,0 Ba	48,0 Ba	79,0 Aa	56,0 Bb	78,0 Aa	47,0 Ba
40 °C/10 min.	25,0 Cb	45,0 Ba	79,0 Aa	94,0 Aa	87,0 Aa	56,0 Ba
50 °C/5 min.	73,0 Aa	47,0 Ba	84,0 Aa	78,0 Aa	80,0 Aa	40,0 Ba
50 °C/10 min.	60,0 Ba	48,0 Ca	71,0 Aa	84,0 Aa	80,0 Aa	39,0 Ca
60 °C/5 min.	23,0 Db	40,0 Ca	72,0 Ba	87,0 Aa	62,0 Bb	41,0 Ca
60 °C/10 min.	6,0 Cc	5,0 Cb	82,0 Aa	54,0 Bb	91,0 Aa	9,0 Cb
CV (%)	17,31					
-----EM (%)-----						
Testemunha	78,0 Ba	91,0 Aa	89,0 Aa	97,0 Aa	89,0 Aa	82,0 Ba
Captana	81,0 Ba	90,0 Aa	93,0 Aa	98,0 Aa	86,0 Ba	83,0 Ba
40 °C/5 min.	80,0 Aa	88,0 Aa	91,0 Aa	92,0 Aa	86,0 Aa	83,0 Aa
40 °C/10 min.	62,0 Db	83,0 Ba	97,0 Aa	96,0 Aa	92,0 Aa	77,0 Ca
50 °C/5 min.	87,0 Ba	80,0 Ba	92,0 Aa	96,0 Aa	85,0 Ba	85,0 Ba
50 °C/10 min.	83,0 Aa	69,0 Bb	92,0 Aa	91,0 Aa	90,0 Aa	70,0 Bb
60 °C/5 min.	66,0 Bb	71,0 Bb	91,0 Aa	94,0 Aa	88,0 Aa	63,0 Bb
60 °C/10 min.	46,0 Bc	29,0 Cc	91,0 Aa	84,0 Aa	94,0 Aa	38,0 Bc
CV (%)	8,55					
-----IVE-----						
Testemunha	2,77 Cb	3,65 Aa	3,77 Aa	4,02 Ab	3,77 Ab	3,35 Ba
Captana	3,52 Ba	3,63 Ba	3,89 Ba	4,62 Aa	3,66 Bb	3,31 Ba
40 °C/5 min.	3,63 Ba	3,51 Ba	3,96 Aa	3,87 Ab	4,12 Aa	3,26 Ba
40 °C/10 min.	2,38 Db	3,53 Ba	3,96 Aa	4,25 Aa	4,19 Aa	3,15 Ca
50 °C/5 min.	3,95 Aa	3,33 Ba	3,82 Aa	4,09 Ab	3,90 Ab	3,42 Ba
50 °C/10 min.	3,74 Ba	2,97 Cb	3,82 Ba	4,15 Ab	4,23 Aa	2,93 Cb
60 °C/5 min.	2,59 Cb	2,93 Cb	3,74 Ba	4,34 Aa	3,70 Bb	2,81 Cb
60 °C/10 min.	1,72 Cc	1,25 Dc	3,86 Ba	3,63 Bb	4,42 Aa	1,59 Cc
CV (%)	7,68					
-----PAN (%)-----						
Testemunha	2,0 Aa	3,0 Aa	5,0 Aa	3,0 Ab	5,0 Aa	3,0 Ab
Captana	2,0 Aa	3,0 Aa	3,0 Aa	2,0 Ab	6,0 Aa	3,0 Ab
40 °C/5 min.	5,0 Aa	3,0 Aa	6,0 Aa	7,0 Aa	5,0 Aa	2,0 Ab
40 °C/10 min.	2,0 Ba	8,0 Aa	1,0 Ba	3,0 Bb	3,0 Ba	3,0 Bb
50 °C/5 min.	2,0 Ba	6,0 Aa	1,0 Ba	4,0 Bb	6,0 Aa	6,0 Aa
50 °C/10 min.	3,0 Aa	6,0 Aa	3,0 Aa	8,0 Aa	5,0 Aa	6,0 Aa
60 °C/5 min.	4,0 Aa	6,0 Aa	2,0 Aa	6,0 Aa	5,0 Aa	9,0 Aa
60 °C/10 min.	3,0 Ba	7,0 Aa	3,0 Ba	7,0 Aa	2,0 Ba	7,0 Aa
CV (%)	32,07					

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha são estatisticamente iguais pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). CBR: Branca, CCE: Cearense, CCL: Cara Larga, COV: Orelha de Vó, CRX: Roxinha e CVE: Orelha de Veia. Testemunha (água destilada esterilizada – ADE), Fungicida Captana (240 g 100 kg⁻¹ de sementes).

Em relação ao índice de velocidade de emergência (IVE) observou-se que as temperaturas a 60 °C por 10 minutos na variedade Branca, 50 °C por 10 minutos e 60 °C em todos os tempos de imersão nas variedades Cearense e Orelha de Veia proporcionaram plântulas menos vigorosas (Tabela 6). Na Orelha de Vó, a exposição das sementes à termoterapia não comprometeu o IVE, tendo em vista que os tratamentos apresentaram resultados semelhantes estatisticamente aos da testemunha ou do tratamento com fungicida. Na Roxinha, os melhores resultados foram observados a 40 °C por 5 e 10 minutos e 50 e 60 °C por 10 minutos de imersão, quando comparado aos demais tratamentos. No entanto, na variedade Orelha de Veia apenas os tratamentos a 50 °C por 10 minutos e 60 °C em todos os tempos de exposição, apresentaram resultados inferiores (Tabela 6).

Para o percentual de plântulas anormais (PAN) nas variedades Branca, Cearense, Cara Larga e Roxinha não foi observado diferença estatística entre os tratamentos. No entanto, na variedade Orelha de Vó, observou-se que as temperaturas de 40 °C por 5 minutos, 50 °C por 10 minutos e 60 °C em todos os tempos exposição promoveu aumento no percentual de PAN quando comparado aos demais tratamentos. Comportamento semelhante foi verificado na Orelha de Veia a 50 e 60 °C nos dois tempos de imersão (Tabela 6).

No teste de emergência, verificou-se que o comprimento e massa seca da parte aérea e raízes foi influenciado significativamente pela interação dos fatores estudados (Tabela 7). Para o comprimento de parte aérea (CPA) observou-se que a temperatura de 50 °C nos dois tempos de imersão, proporcionou maior CPA em plântulas na variedade Branca. Enquanto na variedade Cearense, os menores valores de CPA foram observados nas temperaturas de 50 e 60 °C durante 10 minutos, quando comparado aos demais tratamentos.

Na variedade Cara Larga não foi observado efeito negativo da termoterapia no CPA, tendo em vista que os tratamentos apresentaram resultados semelhantes aos da testemunha ou do tratamento com fungicida. Já na variedade Orelha de Vó, os tratamentos a 40 °C por 5 minutos, 50 e 60 °C durante 10 minutos, apresentaram valores significativamente inferiores aos demais tratamentos. Por outro lado, na variedade Roxinha, as temperaturas a 50 e 60 °C por 10 minutos, promoveram maior incremento no CPA. Na variedade Orelha de Veia, os maiores CPA foram observados a 40 °C em todos os tempos de imersão, 50 °C por 10 minutos e 60 °C durante 5 minutos de exposição (Tabela 7).

Para o CPR na variedade Branca, a 40 °C por 5 minutos, proporcionou resultado superior quando comparado aos demais tratamentos. Da mesma forma esse incremento foi constatado na variedade Roxinha a 50 °C por 10 minutos e na Orelha de Veia a 40, 50 e 60 °C durante 5 minutos de imersão (Tabela 7).

Tabela 7 - Comprimento da parte aérea (CPA), raiz (CPR), e matéria seca de parte aérea (MSA), raiz (MSR), oriundos do teste de emergência de sementes tradicionais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), submetidas à termoterapia via calor úmido.

Tratamentos	CBR	CCE	CCL	COV	CRX	CVE
	-----CPA (cm plântula ⁻¹)-----					
Testemunha	10,61 Dc	13,94 Ca	15,44 Bb	19,07 Aa	13,49 Cc	11,42 Db
Captana	11,34 Dc	12,40 Cb	16,22 Ba	19,38 Aa	11,08 Dd	11,13 Db
40 °C/5 min.	12,35 Cb	13,30 Cb	16,37 Aa	14,72 Bb	13,18 Cc	13,25 Ca
40 °C/10 min.	11,10 Dc	14,23 Ba	15,05 Bb	19,57 Aa	14,56 Bb	12,31 Ca
50 °C/5 min.	13,50 Ca	12,95 Cb	15,35 Bb	18,82 Aa	13,59 Cc	11,70 Db
50 °C/10 min.	13,49 Ca	11,35 Dc	15,82 Ba	15,50 Bb	17,25 Aa	12,57 Ca
60 °C/5 min.	12,49 Cb	12,47 Cb	15,13 Bb	19,12 Aa	12,85 Cc	13,11 Ca
60 °C/10 min.	10,00 Cc	9,56 Cd	16,46 Aa	14,77 Bb	17,10 Aa	9,23 Cc
CV (%)	5,41					
-----CPR (cm plântula ⁻¹)-----						
Testemunha	19,25 Cc	18,66 Ca	23,08 Bb	26,52 Aa	18,46 Cb	17,95 Cb
Captana	20,01 Cb	15,35 Eb	25,15 Aa	22,66 Bc	16,20 Ec	18,15 Db
40 °C/5 min.	21,96 Ba	18,81 Ca	23,49 Ab	21,46 Bc	17,03 Dc	19,01 Ca
40 °C/10 min.	18,33 Cc	18,02 Ca	23,68 Bb	26,49 Aa	17,33 Cc	18,46 Cb
50 °C/5 min.	20,10 Ab	16,75 Cb	20,77 Ac	20,20 Ad	18,37 Bb	19,02 Aa
50 °C/10 min.	20,83 Ab	17,11 Bb	21,34 Ac	21,24 Ac	20,30 Aa	16,87 Bb
60 °C/5 min.	20,13 Bb	19,10 Ba	24,88 Aa	23,87 Ab	17,22 Cc	20,29 Ba
60 °C/10 min.	18,69 Cc	16,17 Db	24,11 Ab	20,34 Bd	19,08 Cb	14,31 Ec
CV (%)	5,08					
-----MSA (g plântula ⁻¹)-----						
Testemunha	1,701 Bb	1,863 Ba	1,060 Da	2,312 Aa	0,954 Da	1,446 Cb
Captana	1,603 Bb	1,718 Ba	1,233 Ca	2,001 Ab	0,977 Da	1,698 Ba
40 °C/5 min.	1,572 Bb	1,640 Ba	1,212 Ca	2,228 Aa	1,195 Ca	1,408 Bb
40 °C/10 min.	1,717 Bb	1,731 Ba	1,056 Da	1,967 Ab	1,029 Da	1,381 Cb
50 °C/5 min.	1,744 Bb	1,678 Ba	1,155 Ca	2,144 Ab	1,122 Ca	1,333 Cb
50 °C/10 min.	1,805 Ba	1,518 Cb	1,081 Da	2,102 Ab	1,161 Da	1,675 Ba
60 °C/5 min.	1,964 Ba	1,803 Ba	1,188 Da	2,359 Aa	0,949 Ea	1,430 Cb
60 °C/10 min.	1,645 Bb	1,398 Cb	1,209 Da	2,125 Ab	1,119 Da	1,447 Cb
CV (%)	9,72					
-----MSR (g plântula ⁻¹)-----						
Testemunha	0,642 Bb	0,914 Aa	0,535 Cb	0,860 Aa	0,481 Cb	0,880 Aa
Captana	0,655 Bb	0,686 Bc	0,575 Cb	0,921 Aa	0,513 Cb	0,971 Aa
40 °C/5 min.	0,774 Ba	0,923 Aa	0,638 Ca	0,903 Aa	0,596 Ca	0,782 Bb
40 °C/10 min.	0,776 Ba	0,958 Aa	0,526 Cb	0,798 Ba	0,481 Cb	0,779 Bb
50 °C/5 min.	0,709 Bb	0,786 Bb	0,483 Db	0,919 Aa	0,618 Ca	0,587 Cc
50 °C/10 min.	0,752 Aa	0,642 Bc	0,679 Ba	0,838 Aa	0,614 Ba	0,772 Ab
60 °C/5 min.	0,751 Ba	0,997 Aa	0,703 Ba	0,909 Aa	0,467 Cb	0,878 Aa
60 °C/10 min.	0,875 Ba	1,023 Aa	0,627 Ca	0,902 Ba	0,664 Ca	0,851 Ba
CV (%)	10,78					

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha são estatisticamente iguais pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). CBR: Branca, CCE: Cearense, CCL: Cara Larga, COV: Orelha de Vó, CRX: Roxinha e CVE: Orelha de Veia. Testemunha (água destilada esterilizada – ADE), Fungicida Captana (240 g 100 kg⁻¹ de sementes).

Na variedade Cearense, a termoterapia não comprometeu o CPR, tendo em vista que os resultados foram semelhantes estatisticamente aos da testemunha ou do tratamento com fungicida. Na variedade Cara Larga a 50 °C nos dois tempos de exposição reduziu o CPR

originando plântulas menos vigorosas. Efeito semelhante foi observado na Orelha de Vó nas temperaturas de 50 °C por 5 minutos e 60 °C durante 10 minutos de imersão (Tabela 7).

Para a matéria seca de parte aérea (MSA) nas variedades Cara Larga e Roxinha, não foram observadas diferenças entre os tratamentos analisados. Os maiores acúmulos de MSA na variedade Branca, foram constatados à 50 e 60 °C por 10 e 5 minutos, respectivamente. Na variedade Cearense observou-se que as sementes tratadas à 50 e 60 °C por 10 minutos, apresentaram redução na MSA. Nas variedades Orelha de Vó e Orelha de Veia, evidenciou-se que a termoterapia não interferiu na MSA, tendo em vista que os resultados foram semelhantes estatisticamente aos da testemunha ou do tratamento com fungicida (Tabela 7).

Na variedade Branca, observou-se que apenas o calor úmido à 50 °C por 5 minutos, proporcionou menor incremento de matéria seca de raízes (MSR) não diferindo do fungicida e da testemunha. Resultados semelhantes foram observados na variedade Cearense tratada à 50 °C por 10 minutos. Na variedade Orelha de Vó não foi constatado efeito significativo entre os tratamentos estudados. Os maiores conteúdos de MSR na variedade Cara Larga, foi observado à 40 °C por 5 minutos, 50 °C durante 10 minutos e 60 °C nos dois tempos de exposição. Resultados semelhantes foram observados na variedade Roxinha, à 40 °C por 5 minutos, 50 °C em todos os tempos de imersão e 60 °C por 10 minutos. Na variedade Orelha de Veia, o maior acúmulo de MSR foi verificado na temperatura de 60 °C independente do período de exposição, não diferindo da testemunha e fungicida (Tabela 7).

Os resultados obtidos permitiram evidenciar que a termoterapia pode prejudicar a qualidade fisiológica das sementes de feijão-fava, sobretudo das variedades com maior sensibilidade. Vale ressaltar, que a sensibilidade das sementes ao tratamento térmico pode variar com a espécie, cultivar, entre lotes e vigor inicial (BRAGA et al., 2010).

Diante dos resultados obtidos, presume-se que a redução no percentual de germinação e emergência pode estar relacionada com a desnaturação de proteínas e enzimas que são responsáveis por manter a tolerância das sementes ao calor (RASHID et al., 2017). Já o aumento nos índices de velocidade de germinação e emergência pode estar associado com a manutenção da integridade do sistema de membranas que é fundamental para manter a viabilidade e o vigor das sementes (DUTRA et al., 2015; RASHID et al., 2017). O aumento no percentual de sementes mortas pode estar relacionado com o rompimento da membrana celular ou desnaturação de proteínas e enzimas nos tecidos embrionários das sementes, responsáveis por mantê-las tolerantes ao calor (RASHID et al., 2017; MENEGAES et al., 2019). Já o aumento no percentual de plântulas anormais pode estar relacionado a danos mecânicos no embrião,

infecção por patógenos ou danos associados ao metabolismo germinativo provocados pelo estresse térmico (RASHID et al., 2018).

Além disso, o vigor das sementes tem influência significativa sobre o crescimento inicial das plântulas e manutenção do teor de matéria seca, principalmente quando expostas a diferentes condições de temperatura, por possuir um eficiente sistema enzimático antioxidante, responsável por minimizar os danos oxidativos causados por radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ERO) durante a germinação (KUMAR et al., 2021).

4. CONCLUSÃO

A termoterapia a 40 °C por 5 e 10 minutos foi a melhor opção nas condições testadas para reduzir a incidência de *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* sp., sem afetar a qualidade fisiológica das sementes.

As sementes das variedades Branca, Cearense e Orelha de Veia, apresentaram maior sensibilidade ao estresse térmico quando expostas ao calor úmido a 60 °C por 10 minutos, com redução na porcentagem de germinação, emergência e aumento de sementes mortas

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. A. C.; QUEIROGA, V. P.; MELO, B. A. Água na semente: Importância para a tecnologia de armazenagem. In: BARROS NETO, J. J. S.; ALMEIDA, F. A. C.; QUEIROGA, V. P.; GONÇALVES, C. C. **Sementes: Estudos tecnológicos**. Aracaju: Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Sergipe, 2014. v. 1, cap. 3, p. 55-82.
- ASSUNÇÃO NETO, W. V.; MEDEIROS, A. M.; CARVALHO, L. C. B.; FERREIRA, C. S.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F. Selection of landraces of lima bean for family agriculture. **Revista Caatinga**, v. 35, n. 1, p. 137-147, 2022.
- BÄNZIGER, I.; KÄGI, A.; VOGELGSANG, S.; KLAUS, S.; HEBEISEN, T.; BÜTTNER-MAINIK, A.; SULLAM, K. E. Comparison of thermal seed treatments to control snow mold in wheat and loose smut of barley. **Frontiers in Agronomy**, v. 3, p. 1-11, 2022.
- BARTLETT, M. S. The use of transformations. **Biometrics**, v. 3, n. 1, p. 39-52, 1947.
- BESERRA-JÚNIOR, J. E. A.; BARGUIL, B. M. Feijão-fava: doenças virais e fúngicas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 27, p. 138-153, 2021.
- BRAGA, M. P.; OLINDA, R. A.; HOMMA, S. K.; DIAS, C. T. S. Relações entre tratamento térmico, germinação, vigor e sanidade de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 101-110, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. 1. ed. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- CARDOSO, A. I. I.; PIACENTI, L. Z.; LINO, P. R.; PADOVAN, I. M.; KRONKA, A. Z. Control of *Alternaria brassicicola* with thermotherapy and propolis and effect on the physiological quality of kale seeds. **Horticultura Brasileira**, v. 38, n. 4, p. 363-369, 2020.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.
- CUNHA, R. P.; CARVALHO, I. L.; OLSEN, D.; VIEIRA, J. F.; SOARES, V. N.; TUNES, L. M. Termoterapia no controle de patógenos associados às sementes de abóbora. **Revista Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 11, n. 2, p. 53-57, 2017.
- DUTRA, S. M. F.; VON PINHO, E. V. R.; SANTOS, H. O.; LIMA, A. C.; VON PINHO, R. G.; CARVALHO, M. L. M. Genes related to high temperature tolerance during maize seed germination. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 18047-18058, 2015.
- FARIAS, O. R.; CRUZ, J. M. F. L.; GOMES, R. S. S.; SILVA, H. A. O.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica do óleo de alecrim sobre sementes de *Phaseolus lunatus*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 43, n. 1, p. 23-30, 2020.
- FRANÇOSO, C. F.; BARBEDO, C. J. Osmotic and heat treatments on control of fungi associated with seeds of *Eugenia brasiliensis* and *E. pyriformis* (Myrtaceae). **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 3, p. 195-203, 2016.

GAUTAM, R. B.; GOYAL, S. K.; KUMAR, L. Post-harvest techniques for quality seed production: An approach. **The Pharma Innovation Journal**, v. 11, n. 6, p. 3069-3078, 2022.

GEBEYAW, M. Review on: Impact of seed-borne pathogens on seed quality. **American Journal of Plant Biology**, v. 5, n. 4, p. 79-83, 2020.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2023. **Produção Agrícola Municipal: Culturas temporárias e permanentes**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612>>. Acesso em: 20 jan. 2024.

KUMAR, S. J.; CHINTAGUNTA, A. D.; REDDY, Y. M.; RAJJOU, L.; GARLAPATI, V. K.; AGARWAL, D. K.; PRASAD, S.R.; SIMAL-GANDARA, J. Implications of reactive oxygen and nitrogen species in seed physiology for sustainable crop productivity under changing climate conditions. **Current Plant Biology**, v. 26, p. 1-10, 2021.

LIMA, L. S. C. F.; FACHINI, C.; SILVA, V. R.; BORGES, J. R. P.; FORTI, V. A. Creole maize from South-West of São Paulo, Brazil: diversity and seed quality. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**, v. 13, n. 1, p. 15-28, 2022.

LUSTOSA-SILVA, J. D.; FERREIRA-GOMES, R. L.; MARTINEZ-CASTILLO, J.; CARVALHO, L. C. B.; OLIVEIRA, L. F.; ORTIZ-GARCÍA, M. M.; SÁNCHEZ-SOSA, A. G.; SILVA, G. R.; COSTA, M. F.; SILVA, V. B.; LOPES, Â. C. A. Genetic diversity and erosion in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Northeast Brazil. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 69, n. 8, p. 2819-2832, 2022.

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

MARTÍN, I.; GÁLVEZ, L.; GUASCH, L.; PALMERO, D. Fungal pathogens and seed storage in the dry state. **Plants**, v. 11, n. 22, p. 1-25, 2022.

MEDEIROS, J. G. F.; FONTES, I. C. G.; SILVA, E. C.; SANTOS, P. D.; RODRIGUES, R. M. Controle de fungos e qualidade fisiológica de sementes de soja (*Glycine max* L.) submetidas ao calor húmido. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 464-471, 2019.

MENEGAES, J. F.; NUNES, U. R.; BELLÉ, R. A.; LOPES, S. J.; FERNANDES, T. S.; LUDWIG, E. J.; ZINI, P. B.; BARBIERI, G. F. Thermotherapy via humid heat for the treatment of safflower seeds. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 11, p. 30-40, 2019.

MOTA, J. M.; MELO, M. P.; SILVA, F. F. S.; SOUSA, E. M. J.; SOUSA, E. S.; BARGUIL, B. M.; BESERRA-JÚNIOR, J. E. A. Fungal diversity in lima bean seeds. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 11, n. 1, p. 79-87, 2017.

NASCIMENTO, M. G. R.; SILVA, M. L. M.; ALVES, E. U.; RODRIGUES, C. M.; SILVA, M. J. Vigor tests in seeds creole of *Phaseolus lunatus* L. **Bioscience Journal**, v. 35, n. 5, p. 1463-1469, 2019.

ORLOVIĆ, J. K.; DRVODELIC, D.; VUKELIĆ, M.; RUKAVINA, M.; DIMINIĆ, D.; ORŠANIĆ, M. Impact of thermotherapy and short-term storage on *Quercus robur* L. acorn mycobiota and germination. **Forests**, v. 12, n. 5, p. 1-16, 2021.

PENIDO, A. C.; RODRIGUES, V. O.; CARVALHO, M. V.; KREPISCHI, L. S.; PEREIRA, C. C.; OLIVEIRA, J. A. Effect of chemical treatment on the physiological and sanitary quality of stored coffee seeds. **Journal of Seed Science**, v. 43, e202143009, 2021.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 31 out. 2023.

RASHID, M.; HAMPTON, J. G.; ROLSTON, M. P.; KHAN, K. M.; SAVILLE, D. J. Heat stress during seed development affects forage brassica (*Brassica napus* L.) seed quality. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 204, n. 2, p. 147-154, 2017.

RASHID, M.; HAMPTON, J. G.; ROLSTON, M. P.; TRETHERWEY, J. A.; SAVILLE, D. J. Forage rape (*Brassica napus* L.) seed quality: Impact of heat stress in the field during seed development. **Field Crops Research**, v. 217, p. 172-179, 2018.

SEIFERT, K.; MORGAN-JONES, G.; GAMS, W.; KENDRICK, B. **The genera of Hyphomycetes**. 1 ed. Utrecht. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2011. 866 p.

SOUSA, E. S.; MELO, M. P.; MOTA, J. M.; SOUSA, E. M. J.; BESERRA-JÚNIOR, J. E. A. MATOS, K. S. First report of *Fusarium falciforme* (FSSC 3+ 4) causing root rot in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Brazil. **Plant Disease**, v. 101, n. 11, p. 1954-1954, 2017.

VIEIRA, H.; MARTINS, J. V. S.; BARRETO, G. G.; GOMES, R. S. S.; SILVA, E. C.; NASCIMENTO, L. C. Sanitary and physiological quality of 'purple' corn (*Zea mays* L.) seeds submitted to thermotherapy. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 86, p. 1-7, 2019.

CAPÍTULO III

PREVALÊNCIA, PERFIL TOXIGÊNICO E PATOGENICIDADE DE ESPÉCIES DE *Fusarium* ASSOCIADAS ÀS SEMENTES DE FEIJÃO-FAVA

SILVA, E. C. **Prevalência, perfil toxigênico e patogenicidade de espécies de *Fusarium* associadas às sementes de feijão-fava.** (Doutorado em Agronomia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba. Areia, PB. 2024.

RESUMO

O gênero *Fusarium* contém algumas das espécies de fungos mais devastadoras do mundo, afetando diversas culturas agrícolas, incluindo o feijão-fava. Os principais dados associados às sementes estão relacionados à transmissão e disseminação de doenças, incluindo podridão de sementes e raízes, murcha vascular e produção de micotoxinas. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi identificar as espécies de *Fusarium* associadas às sementes de feijão-fava de diferentes regiões da Paraíba, bem como determinar o potencial toxigênico, a prevalência e a transmissão semente-plântula dessas espécies. Foram utilizadas sementes tradicionais de seis variedades de feijão-fava, das quais se obteve um total de 26 isolados de *Fusarium* spp. A caracterização molecular foi realizada utilizando sequências das regiões gênicas TEF₁ e RPB₂. O perfil toxigênico das espécies de *Fusarium* para detecção do gene *FUM1*, preditivo da fumonisina, foi determinado por método molecular utilizando os *primers* FUM53F/R e VERTF1/2. A prevalência foi obtida pelo número de isolados pertencentes a uma espécie em relação ao número de isolados por variedade. A patogenicidade dos isolados de *Fusarium* spp. foi avaliada através da inoculação das sementes da variedade Orelha de Vó pelo método de suspensão de esporos. Foram avaliados o índice de doença, taxa de infecção, estande final, índice de velocidade de emergência, volume de raízes e comprimento e massa seca da parte aérea e raízes. Onze espécies de *Fusarium* foram identificadas: *F. hainanense*, *F. caatingaense*, *F. lacertarum*, *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum*, *F. irregulare*, *F. verticillioides*, *F. annulatum*, *F. napiforme*, *F. contaminatum* e *F. fabacearum*. Este é o primeiro relato no mundo das espécies *F. hainanense*, *F. lacertarum*, *F. irregulare*, *F. annulatum*, *F. napiforme*, *F. contaminatum* e *F. fabacearum* infectando sementes de feijão-fava. Dentre as espécies, *F. verticillioides* foi a mais prevalente, estando restrita as variedades Cara Larga, Orelha de Vó e Orelha de Veia. Todos os isolados de *F. verticillioides* e um de *F. hainanense* mostraram-se positivos quanto à presença do gene *FUM1*, preditivo da fumonisina. Os isolados afetaram negativamente os parâmetros fisiológicos das plantas de feijão-fava, levando a uma série de disfunções metabólicas e de crescimento.

Palavras-chave: *Phaseolus lunatus* L.; diversidade genética; fumonisina; qualidade fisiológica.

SILVA, E. C. **Prevalence, toxigenic profile and pathogenicity of *Fusarium* species associated with lima bean seeds.** (Doctorate in Agronomy). Postgraduate Program in Agronomy of Federal University of Paraíba, Areia, PB. 2024.

ABSTRACT

The *Fusarium* genus contains some of the most devastating fungal species in the world, affecting agricultural crops, including lima bean plants. The most data associated with seeds are related to the transmission and spread of diseases, including seed and root rot, vascular wilt and mycotoxin production. Thus, the objective of this study was to identify the *Fusarium* species associated with lima bean seeds from different state of Paraíba areas, in Brazil, as well as to determine the toxigenic potential, prevalence and seed-seedling transmission of these species. Traditional seeds of six lima beans varieties were used, from which a total of 26 isolates of *Fusarium* spp. obtained. The fungi molecular characterization was performed using sequences of the TEF1 and RPB2 gene regions. The toxigenic profile of the *Fusarium* species for detection of the *FUM1* gene predictive of fumonisin was determined by molecular method using the primers FUM53F/R and VERTF1/2. Prevalence was obtained by isolates number belonging to species in relation to the number of isolates per variety. The pathogenicity of the *Fusarium* spp. isolates was evaluated through inoculating seeds of the Orelha de Vó variety using the spore suspension method. The disease index, infection rate, final plant stand, emergence speed index, roots volume, length and dry mass of the aerial and roots part were determined. Eleven species of *Fusarium* were identified: *F. hainanense*, *F. caatingaense*, *F. lacertarum*, *F. sulawesiense*, *F. Pernambucanum*, *F. irregulare*, *F. verticillioides*, *F. annulatum*, *F. napiforme*, *F. contaminatum* and *F. fabacearum*. This is the first report in the world of the species *F. hainanense*, *F. lacertarum*, *F. irregulare*, *F. annulatum*, *F. napiforme*, *F. contaminatum* and *F. fabacearum* infecting lima bean seeds. Among the species, *F. verticillioides* was the most prevalent, being restricted to the varieties Cara Larga, Orelha de Vó and Orelha de Veia. All isolates of *F. verticillioides* and one of *F. hainanense* showed themselves positive as presence of the *FUM1* gene, predictive of fumonisin. The isolates did not affect physiological parameters of lima bean plants, leading to a series of metabolic and growth dysfunctions.

Keywords: *Phaseolus lunatus* L.; genetic diversity; fumonisin; physiological quality.

1. INTRODUÇÃO

A fava (*Phaseolus lunatus* L.) também conhecida como feijão-fava ou feijão-de-lima, pertencente à família botânica Fabaceae, é uma espécie plurianual, predominantemente autógama, caracterizada pela alta diversidade genética e potencial produtivo. Devido ao seu sabor característico, está entre as leguminosas do gênero *Phaseolus* mais produzidas e consumidas no mundo (SILVA et al., 2019).

Na região Nordeste do Brasil, essa leguminosa se destaca quanto a sua relevância na agricultura de subsistência, por ser considerada uma alternativa econômica e social para geração de emprego, renda e segurança alimentar, sendo seu cultivo exclusivamente com sementes de variedades tradicionais, com hábito de crescimento indeterminado (JESUS et al., 2018). Embora seja uma das leguminosas mais apreciadas na região Nordeste, com forte influência socioeconômica, seu cultivo ainda é limitado, principalmente pela baixa produtividade relacionada a fatores bióticos (pragas e doenças) e abióticos (fatores climáticos e manejo nutricional) impossibilitando alcançar altas produtividades (LUCENA et al., 2018).

A falta de registros de doenças e de identificação de patógenos tem aumentado a vulnerabilidade da cultura, aumentando o risco de perdas econômicas devido a problemas fitossanitários e a dificuldade de estratégias adequadas de manejo. No entanto, nos últimos anos, foram realizadas pesquisas sobre diferentes aspectos do feijão-fava, incluindo a identificação dos agentes etiológicos de doenças (BESERRA-JÚNIOR et al., 2021).

Dentre os agentes biológicos, os fungos têm causado danos consideráveis à cultura, principalmente aqueles transmitidos por sementes (MOTA et al., 2017). A utilização dessas sementes infectadas pode ocasionar a disseminação de doenças, a redução da qualidade e longevidade das sementes e a produção de micotoxinas que podem ser tóxicas para humanos e animais mesmo em baixas concentrações (MARTÍN et al., 2022).

Os fungos do gênero *Fusarium* podem produzir uma ampla variedade de micotoxinas, incluindo os tricotecenos e fumonisinas. No entanto, estudos recentes demonstraram que genes e outras sequências envolvidas na via biossintética de micotoxinas podem ser alvo de estudos filogenéticos, pois têm a vantagem de ser utilizados numa abordagem combinada para diagnosticar a capacidade de produção desses metabólitos (WANG et al., 2023). Os genes do *cluster* FUM responsável pela síntese de fumonisinas, têm sido utilizados com sucesso como marcadores em pesquisa filogenética em espécies de *Fusarium* (CHANG et al., 2016).

Devido à alta variabilidade genética do gênero *Fusarium*, as técnicas moleculares tornaram-se ferramentas importantes para identificação das espécies de forma mais confiável e precisa (MARTÍN et al., 2022). Assim, a correta identificação dos agentes etiológicos de

doenças do feijão-fava é crucial para a tomada de decisão sobre as estratégias de manejo adequada para a cultura e, conseqüentemente, reduzindo os prejuízos ocasionados pelo ataque desses patógenos (SOUSA et al., 2017; BESERRA-JÚNIOR et al., 2021).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi identificar as espécies de *Fusarium* associadas às sementes de feijão-fava de diferentes áreas produtoras no estado da Paraíba, bem como determinar o potencial toxigênico, a prevalência e a transmissão semente-plântula dessas espécies.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Localização do experimento

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia (LAFIT) do Centro de Ciências Agrárias (CCA), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, Areia-PB e no Laboratório de Fitopatologia Molecular pertencente à Universidade Federal do Cariri (UFCA), Campus Crato, Ceará.

Obtenção e preservação dos isolados de Fusarium

Os isolados foram obtidos de sementes infectadas de seis variedades de feijão-fava oriundas da agricultura familiar dos municípios paraibanos de Alagoa Grande (Branca, Cearense e Orelha de Veia), Remígio (Cara Larga e Roxinha) e Areia (Orelha de Vó).

O isolamento foi realizado utilizando o método de incubação em substrato de papel filtro (*blotter test*) (BRASIL, 2009), com sementes previamente desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (1%) por três minutos, lavadas em água destilada esterilizada (ADE) e secas sobre papel toalha à temperatura ambiente (25 ± 2 °C). A incubação foi realizada em placas de Petri (\varnothing 9 cm), contendo dupla camada de papel filtro esterilizado, umedecido com ADE e mantidas em incubação durante sete dias a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas.

Com auxílio de uma alça de platina flambada, estruturas características de *Fusarium* spp. que cresceu sobre a superfície das sementes, foram transferidas para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). Em seguida, mantidas em B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*) a 25 ± 2 °C com fotofase de 12 horas por sete dias. Os isolados foram repicados para BDA até a obtenção da cultura pura (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

Obtenção das culturas monospóricas

Para obtenção da cultura monospórica foi retirado com auxílio de um perfurador flambado (\varnothing 5 mm) sete discos de micélio da margem das colônias de cada isolado, transferindo-os com uma alça de platina flambada, para um tubo de ensaio estéril contendo 9 mL de água destilada esterilizada (ADE).

Para dispersar os conídios na solução, foram realizadas agitações manuais por 30 segundos, seguindo-se diluição seriada com a transferência de 1 mL da suspensão de conídios para o tubo de ensaio subsequente contendo 9 mL de ADE, repetindo-se o procedimento até o quarto tubo (10^{-4} conídios mL^{-1}). No quarto tubo, 1 mL da suspensão foi distribuída em placas de Petri (80 x 15 mm) contendo 10 mL de Ágar-Água (AA) (20 g ágar, 1000 mL de ADE) e incubadas a 25 ± 2 °C por no máximo 12 horas ou até ocorrer a germinação dos esporos (SOUZA et al., 2018).

As culturas monospóricas foram obtidas por meio da coleta de esporos individuais e germinados, visualizado no microscópio óptico. O esporo foi coletado a partir do corte de um fragmento circular, correspondente ao foco de luz do microscópio, com peça confeccionada a partir de Tarugo de Bronze desenvolvida para essa finalidade (SOUZA et al., 2018). Posteriormente, transferidos para placas de Petri (90 x 15 mm) contendo BDA e incubadas por sete dias a 25 ± 2 °C. Os isolados foram preservados pelo método de Castellani (1939).

Caracterização molecular: Extração de DNA, amplificação e sequenciamento

Os isolados fúngicos foram cultivados em placas de Petri contendo meio BDA com uma membrana de celofane na superfície por sete dias a 25 °C no escuro. Uma pequena quantidade de micélio foi raspada da superfície da colônia e transferido em microtubos de 2 mL contendo 4 microesferas (Beads). O DNA genômico foi extraído com o Wizard Genomic DNA Purification kit (Promega Corporation, Fitchburg, EUA) seguindo as instruções do fabricante. As concentrações de DNA foram estimadas visualmente em gel de agarose a 1% comparando-se a intensidade da banda com um marcador de peso molecular com escala de 1 kb (Axygen Scientific Inc., Union City, EUA).

Após a extração do DNA, as amostras foram submetidas a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) para amplificação dos genes fator de alongamento da tradução 1- α (EF1- α), utilizando os oligonucleotídios EF1 (5'-ATGGGTAAGGAGGACAAGAC-3') e EF2 (5'-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3') (O'DONNELL et al., 1998), e segunda maior subunidade da RNA polimerase II (RPB₂), com os oligonucleotídios RPB2-5F2 (5'-GAYGAYCGTGATCACTTYGG-3') (REEB et al., 2004) e RPB2-7cR (5'-CCCATRGCYTGYTTRCCCAT-3') (LIU, WHELEN; HALL, 1999).

Os componentes usados para amplificação por PCR foram uma mistura de 12,5 μL , contendo: 6,25 μL de GoTaq® Green Master Mix (2X) (Promega Corporation), 0,5 μL de cada primer, 4,25 μL de Água nuclease-Free e 1 μL de DNA. Um controle negativo (sem DNA) foi incluído em todas as reações de PCR.

Para EF1- α , as seguintes condições de amplificação foram usadas: desnaturação inicial a 94 °C por 1 min, seguida por 34 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento a 50 °C por 45 s, extensão a 72 °C por 1 min e uma extensão final a 72 °C por 5 min. Para a região RPB2, as condições de amplificação por PCR foram: desnaturação inicial a 94 °C por 90 s, seguida por 40 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento a 55 °C por 90 s, extensão a 68 °C por 2 min e uma extensão final a 68 °C por 5 min. As reações PCR foram realizadas em um termociclador Biocycler MJ 96 (Applied Biosystems, Waltham, EUA).

Os produtos da amplificação de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1% em Tris-acetato 1.0 x ácido EDTA (TAE), corados com GelRed™ (Biotium Inc., Hayward, EUA) e fotografados sob luz ultravioleta (UV). Os produtos de PCR foram purificados utilizando o kit de purificação NucleoSAP® (Cellco Biotec do Brasil Ltda, Brasil), seguindo as instruções do fabricante.

Foi realizado o sequenciamento em ambas as direções com os mesmos oligonucleotídeos da amplificação usando um ABI PRISM 3100 - Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) na Plataforma de Sequenciamento do Laboratório Central do Centro de Biociências (LABCEN/CCB) na Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brasil).

Alinhamento de sequências e análises filogenéticas

A análise dos cromatogramas gerados pelo sequenciamento dos genes EF1- α e RPB2 e a montagem dos contigs foi realizada utilizando o software Staden Package® v.2.0 (STADEN et al., 1998). As sequências foram alinhadas utilizando o programa ClustalX v.1.83 (THOMPSON et al., 1997). Sequências de isolados de referência de *Fusarium* obtidas do GenBank foram incluídas nas análises. As relações filogenéticas entre as sequências dos genes individuais e concatenadas foram analisadas pelo método de Máxima Verossimilhança (MV), com o modelo de substituição de nucleotídeos selecionado por meio do critério de informação bayesiana. Análises de bootstrap com valores de suporte ($MV \geq 70$) com 1000 repetições foram realizadas para estimar a confiabilidade dos ramos das árvores geradas. As análises de MV foram realizadas com auxílio do programa MEGA 7 (KUMAR et al., 2018).

Avaliação do potencial micotoxigênico

A identificação do potencial micotoxigênico dos isolados foi realizada por meio da utilização de primers específicos para amplificação de genes envolvidos na produção de fumonisina.

A amplificação de parte do gene envolvido na produção de fumonisinas foi realizada utilizando o protocolo de PCR de Patiño et al. (2004), com os oligonucleotídios VERTF-1 (5'-GCGGGAATTCAAAAGTGGCC-3') e VERTF-2 (5'-GAGGGCGCGAAACGGATCGG-3'):

que tem como gene alvo *FUM5/FUM8*, e de Sánchez-Rangel et al. (2005), com os oligonucleotídeos FUM53F (5'-CTTGAACGCGGAGCTAGATTAT-3') e FUM53R (5'-ATCCGTGTATGCATATGTCGAG-3'): que tem como gene alvo *FUM1*.

Os componentes da amplificação por PCR foram os seguintes: 6.25 µL GoTaq® Green Master Mix (2X) (Promega Corporation, Madison, USA), 0.5 µL de cada primer, 4.25 µL de Água nuclease-Free e 1 µL de amostra de DNA totalizando um volume final de 12.5 µL.

A PCR realizada utilizando os oligonucleotídeos VERTF-1/VERTF-2 teve as seguintes condições: desnaturação a 94 °C por 1 min e 25 s; 25 ciclos de desnaturação a 95 °C por 20 s, anelamento a 62 °C por 20 s, extensão a 72 °C por 45 s; extensão final a 72 °C por 5 min, seguido de refrigeração a 4 °C até a retirada das amostras. Já para os oligonucleotídeos FUM53F/FUM53R, as condições da PCR foram: desnaturação a 94 °C por 3 min; 27 ciclos de desnaturação a 94 °C por 40 s, anelamento a 56 °C por 40 s, extensão a 72 °C por 40 s; extensão final a 72 °C por 7 min, seguido de refrigeração a 4 °C até a retirada das amostras.

Como controle positivo foi utilizado um isolado de *Fusarium verticillioides* com potencial de produção de micotoxinas obtido de frutos. O controle negativo (sem o DNA) também foi utilizado na reação de PCR. As reações de PCR foram conduzidas no termociclador MJ BioCycler 96 (Applied Biosystems, Foster City, EUA). Os produtos PCR foram avaliados por eletroforese em gel de agarose a 1% em Tris-acetato 1.0 x ácido EDTA (TAE), corados com GelRed™ (Biotium Inc., Hayward, EUA) e fotografados sob luz ultravioleta (UV).

Prevalência das espécies de Fusarium spp.

A prevalência das espécies de *Fusarium* spp. obtidas de sementes de variedades de feijão-fava foi determinada pela fórmula $TI (\%) = (Cx / Ct) \times 100$ utilizada por Veloso et al. (2018), onde TI é a Taxa de Isolamento, Cx é o número de isolados pertencentes a uma espécie e Ct é o número de isolados por variedade.

Teste de patogenicidade

A patogenicidade dos isolados de *Fusarium* foi avaliada através da inoculação das sementes pelo método de suspensão de esporos, conforme a metodologia utilizada por Rodrigues et al. (2016). Para a condução do experimento foram utilizadas sementes da variedade 'Orelha de Vó'.

Inicialmente, foi realizado a assepsia das sementes com hipoclorito de sódio (1%) por três minutos, seguido de lavagem em ADE e colocadas para secar em temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Os isolados obtidos de colônias puras foram cultivados em meio BDA e mantidos em câmara de incubação do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D) por 15 dias à 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h.

Adicionou-se 10 mL de ADE nas placas de Petri (90 x 15 mm) e com auxílio de um pincel de cerdas macias, homogeneizou-se a massa de esporos, filtrou-se essa suspensão com dupla camada de gaze esterilizada. Posteriormente, foi utilizada 50 mL da suspensão contendo uma concentração 5×10^5 esporos mL^{-1} , quantificados em câmara de Neubauer para cada 25 g de sementes. As sementes foram imersas na suspensão por 5 minutos, drenado o excedente e mantidas em ambiente estéril. As sementes imersas em ADE serviram como tratamento controle.

Após a inoculação, realizou-se a semeadura das sementes a uma profundidade de 2 cm, em vasos de polietileno preto como capacidade de 1 dm^3 , preenchidos com substrato comercial Mecplant® esterilizado. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em blocos ao acaso, com quatro repetições, sendo cada um representado por dois vasos, com três sementes cada. As regas foram realizadas diariamente com um regador manual durante 21 dias.

As avaliações do número de plântulas normais emergidas foi realizada diariamente, observando-se os cotilédones acima do substrato, até a estabilização da emergência e os resultados expressos em porcentagem (BRASIL, 2009). Com os dados diários do número de plântulas emergidas, calculou-se o índice de velocidade de emergência de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962), onde:

$$\text{IVE} = E_1/N_1 + E_2/N_2 + \dots + E_n/N_n$$

Em que IVE = índice de velocidade de emergência; E_1, E_2 e E_n = número de plântulas normais emergidas a cada dia; N_1, N_2 e N_n = número de dias decorridos desde a primeira, segunda, até a última contagem.

Os sintomas foram visualizados até 21 dias após a inoculação. A incidência da doença foi avaliada observando sintomas no hipocótilo, folhas e cotilédones de todas as plântulas, sendo os resultados expressos em porcentagem. Para avaliação da severidade da doença, utilizou-se a metodologia proposta por Aoki et al. (2005) atribuindo-se notas de 1-5, sendo 1 sem sintomas; 2 desenvolvimento de sintomas leves com manchas e mosaico (1-20% da folhagem afetada); 3 desenvolvimento moderado de sintomas com clorose internerval e necrose (21-50% da folhagem afetada); 4 desenvolvimento intenso de sintomas (51-80% da folhagem afetada) e 5 desenvolvimento grave de sintomas com clorose internerval e necrose e/ou plantas mortas (81-100% da folhagem afetada). A partir dos valores de severidade foi calculado o índice de doença (ID) por meio da fórmula proposta por Mckinney (1923), onde:

$$\text{ID (\%)} = [\sum (n \times v) / (N \times V)] \times 100$$

Em que ID = índice de doença; n = número de plântulas com determinada nota; v = nota observada; N = número total de plântulas avaliadas; V = nota máxima da escala.

Para a avaliação da Taxa de infecção (TI) utilizou-se a metodologia proposta por Teixeira e Machado (2003). Fragmentos de cada planta foram seccionados longitudinalmente e desinfestados com hipoclorito de sódio (1%) por 3 min, seguido de dupla lavagem em ADE. Em seguida, colocados em placas de Petri (Ø 9 cm) contendo BDA e mantido em B.O.D à 25 ± 2 °C sob fotoperíodo de 12 h, por sete dias. Decorrido o período de incubação, as placas foram analisadas em microscópio óptico. A TI foi obtida considerando-se o número de fragmentos com crescimento micelial em função do número de plantas avaliadas e o resultado expresso em porcentagem.

Aos 21 dias após a semeadura (DAS), também foram avaliados o comprimento da parte aérea e raízes com auxílio de uma régua graduada em centímetros e os resultados expressos em cm plântula⁻¹. Em seguida, as raízes foram lavadas em água corrente e determinado o volume de raízes pelo método de deslocamento de água, utilizando uma proveta de volume conhecido, com os resultados expressos em cm³.

Após a determinação do comprimento da raiz e parte aérea, o índice de vigor das plantas foi calculado de acordo com a fórmula proposta por Abdul-Baki e Anderson (1973).

$$\text{Índice de vigor} = \text{Emergência (\%)} \times \text{Comprimento (parte aérea + raízes)}$$

Após as mensurações, as raízes e partes aéreas foram acondicionadas em sacos de papel tipo Kraft e colocadas para secar em estufa a 65 °C até atingir peso constante (72 horas). Em seguida, retiradas dos sacos e pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g e os resultados expressos em g plântula⁻¹ (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Análise estatística

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (Bartlett). Em seguida, submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) utilizando o software estatístico R® (R Core Team, 2023).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Coleta de sementes e isolamento

Um total de 26 isolados de *Fusarium* spp., foram obtidos a partir de sementes infectadas de feijão-fava, provenientes de diferentes municípios da Paraíba (Tabela 1).

Tabela 1 - Isolados de *Fusarium* spp. obtidos de sementes infectadas de variedades tradicionais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) provenientes de municípios no Estado da Paraíba.

Complexo/Espécie	Código	Variedades	Origem
FIESC/ <i>F. hainanense</i>	F1	Orelha de Vó	Alagoa Grande
FOSC/ <i>F. contaminatum</i>	F2	Orelha de Vó	Remígio
FIESC/ <i>F. hainanense</i>	F4	Orelha de Vó	Remígio
FFSC/ <i>F. verticillioides</i>	F5	Orelha de Vó	Galante
FIESC/ <i>F. caatingaense</i>	F7	Orelha de Vó	Alagoa Grande
FFSC/ <i>F. annulatum</i>	F9	Orelha de Vó	Galante
FFSC/ <i>F. verticillioides</i>	F10	Orelha de Vó	Alagoa Grande
FIESC/ <i>Fusarium</i> sp.	F12	Orelha de Vó	Alagoa Grande
FIESC/ <i>Fusarium</i> sp.	F13	Orelha de Vó	Areia
FFSC/ <i>F. verticillioides</i>	F14, F16, F17	Orelha de Vó	Areia
FFSC/ <i>F. napiforme</i>	F15	Orelha de Vó	Areia
FIESC/ <i>F. caatingaense</i>	F18	Orelha de Vó	Areia
FIESC/ <i>F. lacertarum</i>	F19, F20	Cearense	Alagoa Grande
FIESC/ <i>F. sulawesiense</i>	F21	Branca	Alagoa Grande
FIESC/ <i>F. hainanense</i>	F22	Branca	Alagoa Grande
FIESC/ <i>F. pernambucanum</i>	F23	Branca	Alagoa Grande
FFSC/ <i>F. verticillioides</i>	F24	Orelha de Veia	Alagoa Grande
FOSC/ <i>F. fabacearum</i>	F25	Roxinha	Remígio
FFSC/ <i>F. verticillioides</i>	F27	Cara Larga	Remígio
FIESC/ <i>F. sulawesiense</i>	F29	Cara Larga	Remígio
FIESC/ <i>F. irregulare</i>	F30	Cara Larga	Remígio
FIESC/ <i>Fusarium</i> sp.	F31	Cara Larga	Remígio

Análise filogenética

Dos isolados avaliados, quatorze (F1, F4, F7, F12, F13, F18, F19, F20, F21, F22, F23, F29, F30 e F31) agruparam-se com o complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC). Nove isolados (F5, F9, F10, F14, F15, F16, F17, F24 e F27) se agruparam ao complexo de espécies *Fusarium fujikuroi* (FFSC). E, por fim, dois isolados (F2 e F25) agruparam como membros do complexo de espécies *Fusarium oxysporum* (FOSC) (Tabela 1).

O gênero *Fusarium* tem se destacado como um dos grupos mais importantes de fungos fitopatogênicos, causando uma série de doenças em inúmeras culturas ao redor do mundo (SUMMERELL, 2019). Esses gênero é representado por 23 complexos de espécies com base em análises filogenéticas multilocus (O'DONNELL et al., 2013; ZHOU et al. 2016; SANDOVAL-DENIS et al., 2018; LOMBARD et al., 2019). Dentre os complexos *F. fujikuroi*, *F. incarnatum-equiseti*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. sambucinum* e *F. tricinctum* merecem destaque devido à sua relevância para a fitopatologia (SUMMERELL, 2019).

Esses complexos estão fortemente apoiados num contexto filogenético e reúnem grupos de espécies que compartilham muitas características práticas relevantes, como a produção de micotoxinas e diversas características fenotípicas (O'DONNELL et al., 2009).

O complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) é um complexo filogeneticamente rico em espécies que inclui mais de 30 espécies filogenéticas, em uma ampla gama de hospedeiros e habitats em todo o mundo (WANG et al., 2019; XIA et al., 2019). Diversos estudos revelaram que membros do FIESC são capazes de produzir uma variedade de micotoxinas (VILLANI et al., 2016; AVILA et al., 2019; VILLANI et al., 2019).

Já o complexo de espécies *Fusarium fujikuroi* (FFSC) inclui mais de 60 espécies filogenéticas com importância fitopatológica e clínica (YILMAZ et al., 2021). As espécies que fazem parte deste grupo são de grande relevância e causam grande preocupação em relação à qualidade e quantidade de alimentos em todo o mundo, já que além de causar doenças severas em diversas culturas, também produzem diversas micotoxinas (QIU et al., 2020).

Enquanto o complexo de espécies *Fusarium oxysporum* (FOSC) compreende uma infinidade de espécies que causam murcha vascular em culturas economicamente importantes em todo o mundo (GORDON, 2017; LOMBARD et al., 2019). Este complexo inclui espécies patogênicas a plantas, animais e humanos, inclusive as não patogênicas (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

Para o complexo de espécies *F. incarnatum-equiseti* foi realizada análise concatenada das regiões gênicas TEF₁ e RPB₂ de todas as espécies pertencentes ao complexo juntamente com as sequências de todos os isolados identificados. Utilizou-se como outgroup a espécie *F. newnessense* (Figura 1).

A árvore filogenética gerada com os dados concatenados das regiões TEF₁ e RPB₂ (Figura 1) agrupou 3 isolados (F1, F4 e F22) com a espécie *F. hainanense* (89% de MV). Já os isolados F7 e F18 se agruparam com *F. caatingaense* com 76% de MV. Dois isolados (F19 e F20) agruparam com representantes de *F. lacertarum* (54% de MV). Os isolados F21 e F29 se agruparam com *F. sulawesiense* com 69% de MV. O isolado (F23) agrupou com representantes de *F. pernambucanum* (99% de MV). E, um isolado (F30) se agrupou com representantes de *F. irregulare* com 91% de MV.

O isolado F12 foi identificado apenas dentro do complexo *F. incarnatum-equiseti* por não agrupar com outras espécies. Os isolados F13 e F31 não se agruparam com nenhuma espécie conhecida do complexo, formando um novo clado com 91% de MV (Figura 1). Esse complexo é reconhecido por causar doenças em inúmeras culturas ao redor do mundo, com algumas de suas espécies importantes produtoras de micotoxinas (XIA et al., 2019).

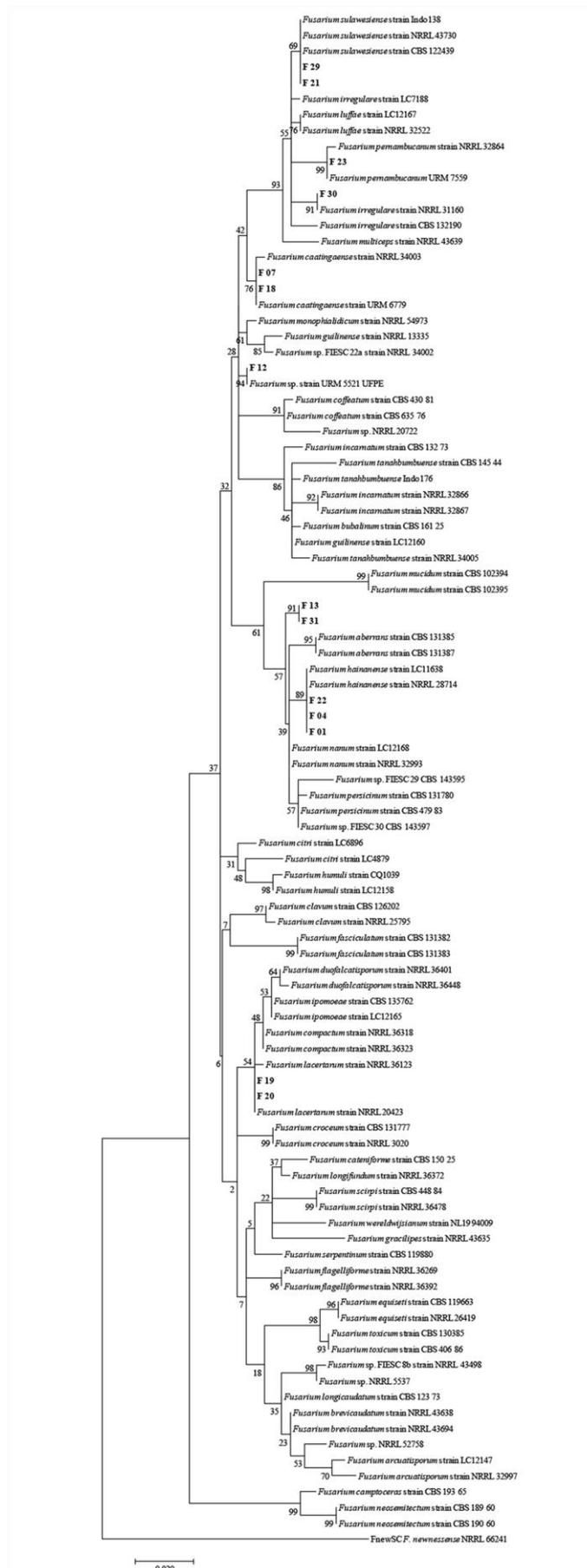


Figura 1 - Árvore concatenada gerada pelo método de Máxima Verossimilhança com as espécies pertencentes ao complexo *Fusarium incarnatum-equiseti*, utilizando sequências das regiões gênicas TEF₁ e RPB₂. Os isolados deste estudo estão em negrito. Os valores de suporte de bootstrap (MV ≥70) encontram-se nos nós. *F. newnessense* foi utilizado como outgroup.

A espécie *F. hainanense* foi relatada pela primeira vez em bananeira (*Musa nana*) e arroz (*Oryza* sp.) na China (WANG et al., 2019). Mas tarde, associado a espécies como *Acacia* sp., *Musa acuminata*, *Oryza australiensis* (XIA et al., 2019), feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) (GUIDO-MORA et al., 2021) e milho (*Zea mays*) (HAN et al., 2023), mancha foliar em mangueira (*Mangifera indica*) na China (GUO et al., 2021) e podridão da bainha no arroz (IVAYANI et al., 2022; NAYOGYANI; KASIAMDARI, 2022; PRAMUNADIPTA et al., 2022; AFOLABI et al., 2023; PRAMUNADIPTA et al., 2023). No entanto, este é o primeiro relato de *F. hainanense* em feijão-fava no Brasil e no mundo.

As espécies *F. caatingaense* e *F. pernambucanum* foram descritas pela primeira vez em associação com insetos no estado de Pernambuco (SANTOS et al., 2019). A primeira foi encontrada associada à cochonilha-do-carmim (*Dactylopius opuntiae*) e a outra à mosca negra dos citros (*Aleurocanthus woglumi*).

A literatura reporta alguns trabalhos com *F. pernambucanum* causando podridão em diversas culturas, tais como Medeiros Araújo et al. (2020) e Zhang et al. (2021) em frutos de meloeiro (*Cucumis melo*), Liu et al. (2021) em flores de maracujazeiro (*Passiflora edulis*), Li e Zhang et al. (2023) em frutos de mangueira e Han et al. (2023) em colmo do milho. Contudo, este é o primeiro registro da ocorrência de *F. pernambucanum* associado às sementes de feijão-fava no mundo. No Brasil, *F. caatingaense* já foi relatado em plantas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), feijão-fava (*P. lunatus*) e milho (*Z. mays*) (MACIEL et al., 2021).

A ocorrência de *F. lacertarum* também foi relatado no Brasil, causando podridão de cladódio em palma forrageira (*Nopalea cochenellifera*) (SANTIAGO et al., 2018) e murcha vascular em plantas de feijão-caupi (*V. unguiculata*) (AMARAL et al., 2022). No entanto, até o momento, nenhum trabalho foi publicado associando *F. lacertarum* a cultura do feijão-fava, sendo este o primeiro relato.

A espécie *F. sulawesiense* já foi relatada por diversos autores causando doença em várias culturas, incluindo arroz (WANG et al., 2019), soja (SUN et al., 2022), milho e trigo (HAN et al., 2023) na China. No Brasil, *F. sulawesiense* tem sido relatado associado ao arroz (AVILA et al., 2019), melão (LIMA et al., 2020) e feijão-fava (BARRETO et al., 2021).

A espécie *F. irregulare* foi descrita pela primeira vez por Wang et al. (2019) em plantas de bambu (*Poaceae*). No entanto, estudos recentes têm relatado em associação com plantas de mata pasto (*Senna uniflora*) (MONTROYA-MARTÍNEZ et al., 2022) e variedades de laranjeiras, como *Citrus sinensis* e *C. aurantium* (KURBESSOIAN et al., 2023). Contudo, nenhum trabalho foi publicado associando *F. irregulare* a cultura do feijão-fava, sendo este o primeiro relato.

Para o complexo de espécies *Fusarium fujikuroi* também foi realizada a análise concatenada com as regiões TEF₁ e RPB₂ de todas as espécies pertencentes ao complexo juntamente com as sequências de todos os isolados identificados. *F. falciforme* foi utilizado como outgroup. A árvore gerada (Figura 2) agrupou sete isolados (F5, F10, F14, F16, F17, F24 e F27) como pertencentes a *F. verticillioides* com 98% de MV. Um isolado (F9) agrupou com representantes de *F. annulatum* (98% de MV). E, um isolado (F15) agrupou como pertencente a *F. napiforme* com 100% de MV.

A espécie *F. verticillioides* também já foi relatada por diversos autores causando doença em culturas agrícolas ao redor do mundo, incluindo arroz, milho e trigo (YILMAZ et al., 2021; HAN et al., 2023). Dentro do gênero *Phaseolus*, a espécie foi relatada associada às sementes de feijão-comum (*P. vulgaris*) na Costa Rica (GUIDO-MORA et al., 2021). No entanto, *F. verticillioides* foi relatado anteriormente por Mota et al. (2017) e Sousa et al. (2020) infectando sementes de feijão-fava no Brasil, porém a identificação foi baseada apenas em caracteres morfológicos. Mais tarde, com base em análises filogenéticas, foi relatado no Brasil associado às sementes de feijão-fava (BARRETO et al., 2021).

A espécie *F. annulatum* já foi relatada causando doença em diversas culturas em todo mundo, incluindo milho, arroz, trigo (YILMAZ et al., 2021) e podridão em frutos de meloeiro na Espanha (PARRA et al., 2022) e bulbos em açafrão (*Crocus sativus* L.) na China (MIRGHASEMPOUR et al., 2022). No entanto, até o momento, nenhum trabalho foi publicado associando *F. annulatum* à cultura do feijão-fava.

A espécie *F. napiforme* foi relatada pela primeira vez por Marasas et al. (1987) em grãos de milheto (*Pennisetum typhoides*) na África do Sul. No México, foi registrada causando podridão da espiga no milho (MORALES-RODRÍGUEZ et al., 2007) e na Itália, infectando sementes de arroz (AMATULLI et al., 2010). Contudo, este é o primeiro registro de *F. napiforme* associado ao feijão-fava.

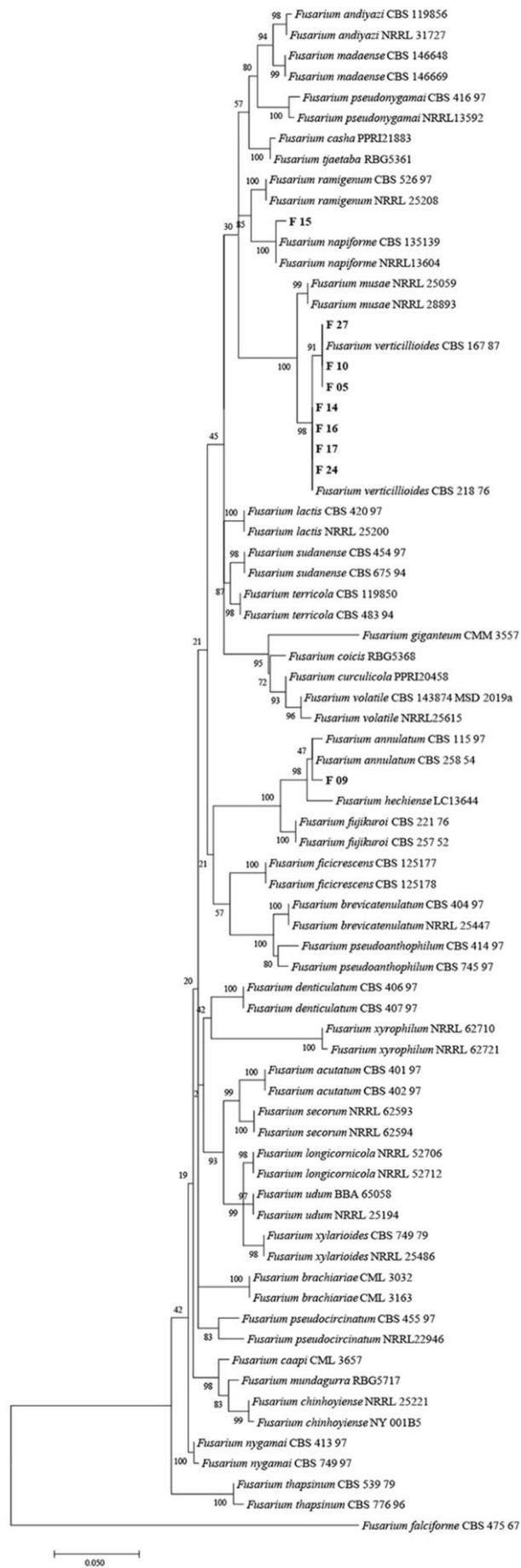


Figura 2 - Árvore concatenada gerada pelo método de Máxima Verossimilhança com as espécies pertencentes ao complexo *Fusarium fujikuroi*, utilizando sequências das regiões gênicas TEF₁ e RPB₂. Os isolados deste estudo estão em negrito. Os valores de suporte de bootstrap (MV \geq 70) encontram-se nos nós. *F. newnessense* foi utilizado como outgroup.

Análise concatenada das regiões TEF₁ e RPB₂ também foi realizada com os isolados F2 e F25, incluindo representantes de todas as espécies pertencentes ao complexo *F. oxysporum*. Utilizou-se como outgroup *F. newnessense* e *F. foetens*. A árvore gerada (Figura 3) agrupou o isolado F2 como pertencente a *F. contaminatum* com 84% de MV. O isolado F25 agrupou com a espécie *F. fabacearum* com 93% de MV.

Espécies de *F. contaminatum*, e *F. fabacearum* foram descritas pela primeira vez por Lombard et al. (2019). *F. contaminatum* foi encontrado em leite achocolatado pasteurizado na Alemanha e *F. fabacearum*, originalmente isolado da soja e posteriormente encontrado no milho, na África do Sul. No entanto, até o momento, nenhum trabalho foi publicado associando *F. contaminatum* a cultura do feijão-fava, sendo este o primeiro relato.

Trabalho publicado por Farias et al. (2021) relatou *F. fabacearum* infectando plantas de jambeiro vermelho (*Syzygium malaccensis*) no Brasil. Paulino et al. (2022) também relataram *F. fabacearum* causando murcha vascular em plantas de feijoeiro e Ono et al. (2023) relataram *F. fabacearum* infectando tubérculos de mandioca (*Manihot esculenta*) no Brasil. Contudo, até o momento, não foram encontrados trabalhos associando *F. fabacearum* infectando sementes de feijão-fava.

Membros do FOSC podem causar doenças devastadoras como a murcha de fusário em culturas economicamente importantes e estão listados entre os cinco patógenos de plantas mais importantes (YU et al., 2023). Além disso, cada grupo de *formae speciales* é patogênico para uma determinada espécie ou grupo de plantas, mostrando um elevado grau de especificidade para o hospedeiro. No entanto, um grande número de *F. oxysporum* podem infetar e causar doenças em mais do que uma espécie de planta e, às vezes, em espécies não relacionadas (LOMBARD et al., 2019; SUMMERELL, 2019).

A murcha de fusário é considerada uma das doenças mais importantes na produção de leguminosas em vários países do mundo. Historicamente, *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* tem sido relatado o agente causal dessa doença no feijoeiro (*P. vulgaris*) (PAULINO et al. 2022). Este fungo pode penetrar no tecido radicular intacto e também em partes mais desenvolvidas da raiz e do hipocótilo, geralmente através de ferimentos ou aberturas naturais (GARCÉS-FIALLOS et al., 2017) e coloniza o xilema, levando à descoloração vascular, clorose, nanismo, murcha e morte prematura das plantas (GALDINO et al., 2021). Portanto, o risco de introdução de patógenos em áreas de cultivo, pelo uso de sementes infectadas, é muito alto, mesmo com o uso do controle químico (BARRETO et al., 2021).

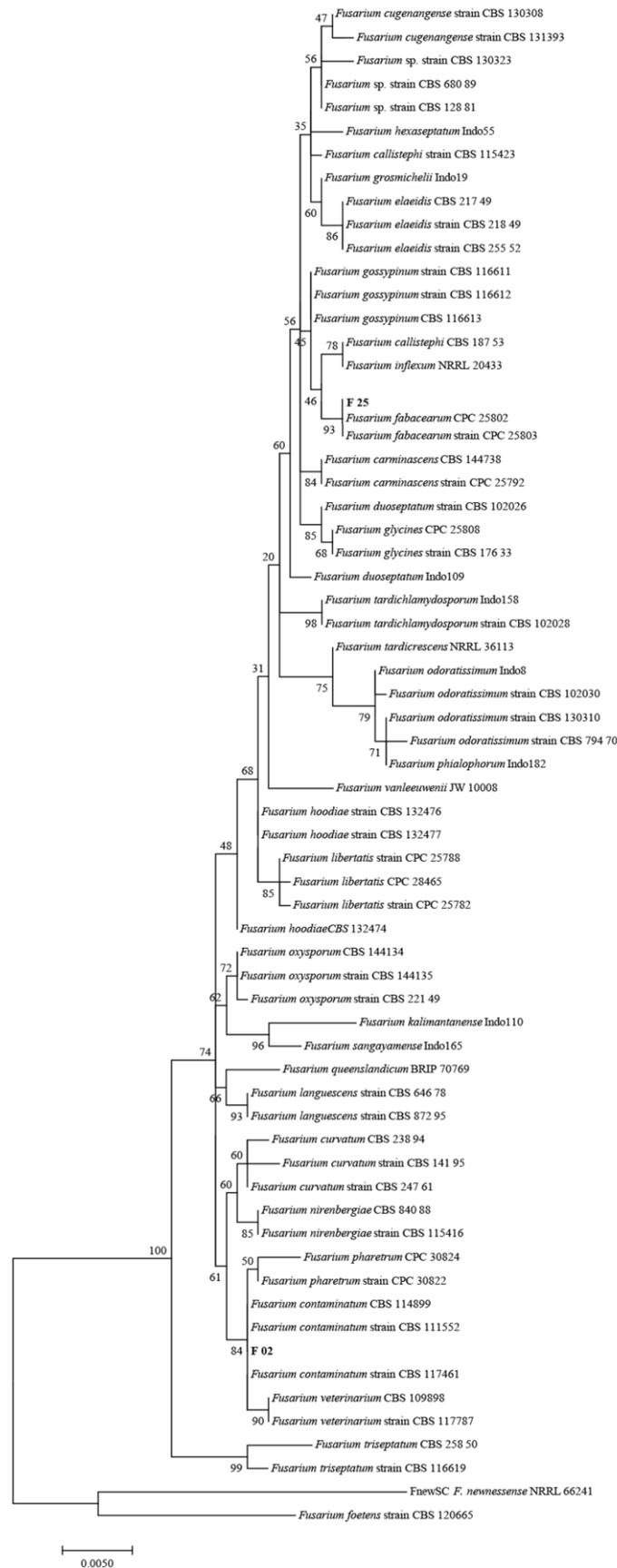


Figura 3 - Árvore concatenada gerada pelo método de Máxima Verossimilhança com as espécies pertencentes ao complexo *Fusarium oxysporum*, utilizando sequências das regiões gênicas *TEF1* e *RPB2*. Os isolados deste estudo estão em negrito. Os valores de suporte de bootstrap (MV ≥ 70) encontram-se nos nós. *F. newnessense* e *F. foetens* foram utilizados como outgroup.

Prevalência das espécies de *Fusarium*

No geral, *F. verticillioides* foi a espécie mais prevalente associada às sementes de feijão-fava, estando restrita às variedades Cara Larga, Orelha de Vó e Orelha de Veia, representando 31,8% do total de isolados (Figura 4).

Aproximadamente 33,3 e 16,7% dos isolados nas variedades Branca e Orelha de Vó, respectivamente, foram atribuídos a *F. hainanense*. Enquanto *F. lacertarum* e *F. fabacearum* foram prevalentes nas variedades Cearense e Roxinha. As espécies *F. annulatum* (8,3%), *F. caatingaense* (16,7%), *F. contaminatum* e *F. napiforme* (8,3%) estão restritas à variedade Orelha de Vó. *F. sulawesiense* foi encontrado apenas nas variedades Branca e Cara Larga, representando 9,1% dos isolados obtidos. Em contrapartida, *F. pernambucanum* e *F. irregulare* foram restritas às variedades Branca e Cara Larga, correspondendo 4,5% dos isolados obtidos, respectivamente.

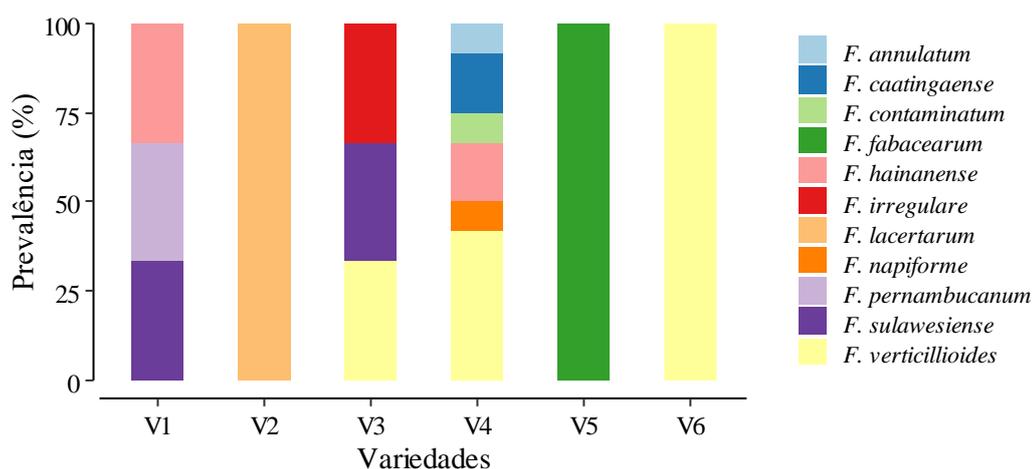


Figura 4 - Prevalência das espécies de *Fusarium* associadas às sementes de variedades de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). V1: Branca, V2: Cearense, V3: Cara Larga, V4: Orelha de Vó, V5: Roxinha e V6: Orelha de Veia.

F. annulatum, *F. napiforme* e *F. verticillioides* são espécies pertencentes ao complexo *Fusarium fujikuroi* (FFSC). Membros do FFSC são extremamente importantes e representam uma grande preocupação em termos de quantidade e qualidade dos alimentos em todo o mundo, pois não só causam doenças severas nas culturas, como também produzem diversas micotoxinas (QIU et al., 2020).

As espécies *F. caatingaense*, *F. hainanense*, *F. irregulare*, *F. lacertarum*, *F. pernambucanum* e *F. sulawesiense* são pertencentes ao complexo *F. incarnatum-equiseti* (FIESC). As espécies desse complexo, estão associadas a uma ampla gama de habitats (solo e parte aérea) e hospedeiros (plantas, animais e humanos) em todo o mundo, sendo algumas importantes produtoras de micotoxinas (AVILA et al., 2019; WANG et al., 2019).

As espécies *F. contaminatum* e *F. fabacearum* são espécies pertencentes ao complexo de espécies *F. oxysporum* (FOSC). Membros desse complexo, compreendem os principais patógenos disseminados através do solo que causam murcha vascular, podridão e morte de plantas em diversas culturas, como milho, soja, banana e batata-doce (LOMBARD et al., 2019). A diversidade de espécies associadas ao feijão-fava na presente pesquisa é relevante para o conhecimento e identificação dos agentes etiológicos que podem ser transmitidos por sementes e, conseqüentemente, estabelecer estratégias de manejo mais eficientes.

Perfil toxigênico das espécies de *Fusarium*

Em relação ao perfil toxigênico das espécies de *Fusarium* submetidas a PCR para detecção do gene *FUM1* relacionado a fumonisinas, apenas 8 isolados mostraram-se positivos quanto à presença do gene, confirmando o potencial toxigênico dos mesmos (Figura 5).

Todos os isolados de *F. verticillioides* (F05, F10, F14, F16, F17, F24 e F27) associados as variedades Cara Larga (V3), Orelha de Vó (V4) e Orelha de Veia (V6), apresentaram resultado positivo quando utilizado os *primers* FUM53F/R e VERTF1/2 (FUM+). No entanto, para os isolados de *F. hainanense* associados a variedade Branca (V1), apenas no F22 foi identificado a presença do gene quando utilizado os *primers* FUM53F/R (FUM+) (Figura 5).

<i>F. verticillioides</i>	-	-	FUM+	FUM+	-	FUM+
<i>F. sulawesiense</i>	-	-	-	-	-	-
<i>F. pernambucanum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>F. napiforme</i>	-	-	-	-	-	-
<i>F. lacertarum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>F. irregulare</i>	-	-	-	-	-	-
<i>F. hainanense</i>	FUM+	-	-	-	-	-
<i>F. fabacearum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>F. contaminatum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>F. caatingaense</i>	-	-	-	-	-	-
<i>F. annulatum</i>	-	-	-	-	-	-
	V1	V2	V3	V4	V5	V6
	Variedades					

Figura 5 - Perfil toxigênico das espécies de *Fusarium* spp. associadas as sementes de variedades tradicionais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) provenientes do Estado da Paraíba. V₁: Branca, V₂: Cearense (Orelha de Vó Vermelha), V₃: Cara Larga, V₄: Orelha de Vó, V₅: Roxinha e V₆: Orelha de Veia (Cearense). *F. hainanense*: F01, F04 e F22; *F. contaminatum*: F02; *F. verticillioides*: F05, F10, F14, F16, F17, F24 e F27; *F. caatingaense*: F07 e F18; *F. annulatum*: F09; *F. napiforme*: F15; *F. lacertarum*: F19 e F20; *F. sulawesiense*: F21 e F29; *F. pernambucanum*: F23; *F. fabacearum*: F25 e *F. irregulare*: F30. FUM+: Espécies que apresentaram o gene para fumonisina quando utilizado os *primers* FUM53F/R e VERTF1/2.

A presença do gene *FUM1* entre os isolados de *Fusarium* spp. foi observada em diversos estudos, como os de Chang et al. (2016), que ao utilizarem os *primers* VERTF1/2 para análise de isolados de *F. verticillioides* obtidos de grãos de milho no Brasil, constataram amplificação do gene em todos os isolados analisados, corroborando com os resultados obtidos na presente pesquisa.

A contaminação de cereais por fumonisinas é uma preocupação mundial, e *F. verticillioides* é o principal produtor dessa micotoxina (QIU et al., 2020). Em regiões caracterizadas por condições temperadas a quentes, geralmente há uma alta incidência de contaminação por fumonisinas, que tem sido associada ao câncer de esôfago em humanos e a alguns outros tumores em animais (GIL-SERNA et al., 2013).

Na Indonésia, Pramunadipta et al. (2023) não detectaram amplificação do gene *FUM1* preditivo da fumonisina em isolados de *F. hainanense* e *F. sulawesiense* obtidos de cultivares de arroz. No entanto, dos 13 isolados de *F. proliferatum*, sete destes exibiram amplificação do gene, demonstrado pelo uso dos pares de *primers* Fum1F1 e Fum1R2.

Estudos genéticos sugerem que presença de espécies fúngicas como *F. verticillioides* estão intimamente relacionados com a síntese de fumonisinas (CHANG et al., 2016; WANG et al., 2023). Neste caso, o gene *FUM1* seria responsável por controlar a capacidade produtiva de fumonisinas, enquanto *FUM2* e *FUM3* seriam responsáveis por controlar a hidroxilação dos carbonos C-10 e C-05 presentes na molécula. Embora este táxon seja o mais prolífico produtor de fumonisinas, alguns isolados de *F. verticillioides* não apresentam amplificação do gene *FUM1*. Isto significa que os isolados de *F. verticillioides* sem o gene *FUM1* não são potenciais produtores dessa micotoxina (MARÍN et al., 2010).

Este estudo enfatiza a relevância das espécies de *Fusarium* na produção de feijão-fava, não somente como um fator que limita o rendimento da cultura, mas também como um problema de segurança alimentar.

Avaliação do teste de patogenicidade

Durante o teste de patogenicidade, não foram observados sinais de amarelecimento foliar, descoloração vascular do caule ou raiz, murcha ou morte das plantas de feijão-fava var. 'Orelha de Vó', aos 21 dias após a semeadura. No entanto, os isolados de *Fusarium* spp. afetaram negativamente os parâmetros fisiológicos das plantas.

O gênero *Fusarium* é um dos grupos mais importantes de fungos fitopatogênicos que causam doenças como podridão radicular, morte de plântulas, infecção da parte aérea, podendo levar a reduções na produtividade e qualidade de grãos (SOUSA et al., 2022; SUMMERELL,

2019). Corroborando com os resultados obtidos neste trabalho, Reid et al. (1999) consideram o gênero *Fusarium* como fungos endofíticos e onipresente, contudo, nem sempre patogênico.

Ao analisar a taxa de infecção nas plantas de feijão-fava, constatou-se graus de infecção diferenciados, com destaque para os isolados F1 de *F. hainanense* e F21 de *F. sulawesiense* que proporcionaram as menores médias 0 e 4,2%, respectivamente, não diferindo da testemunha (Figura 6A).

Os isolados de *Fusarium* spp. causaram redução no estande final de plantas quando comparados à testemunha, com exceção dos isolados F17 de *F. verticillioides* e F20 de *F. lacertarum* (Figura 6B). Já o menor percentual de plantas emergidas (75%) foi registrado com o isolado F24 de *F. verticillioides*, diferindo significativamente dos demais.

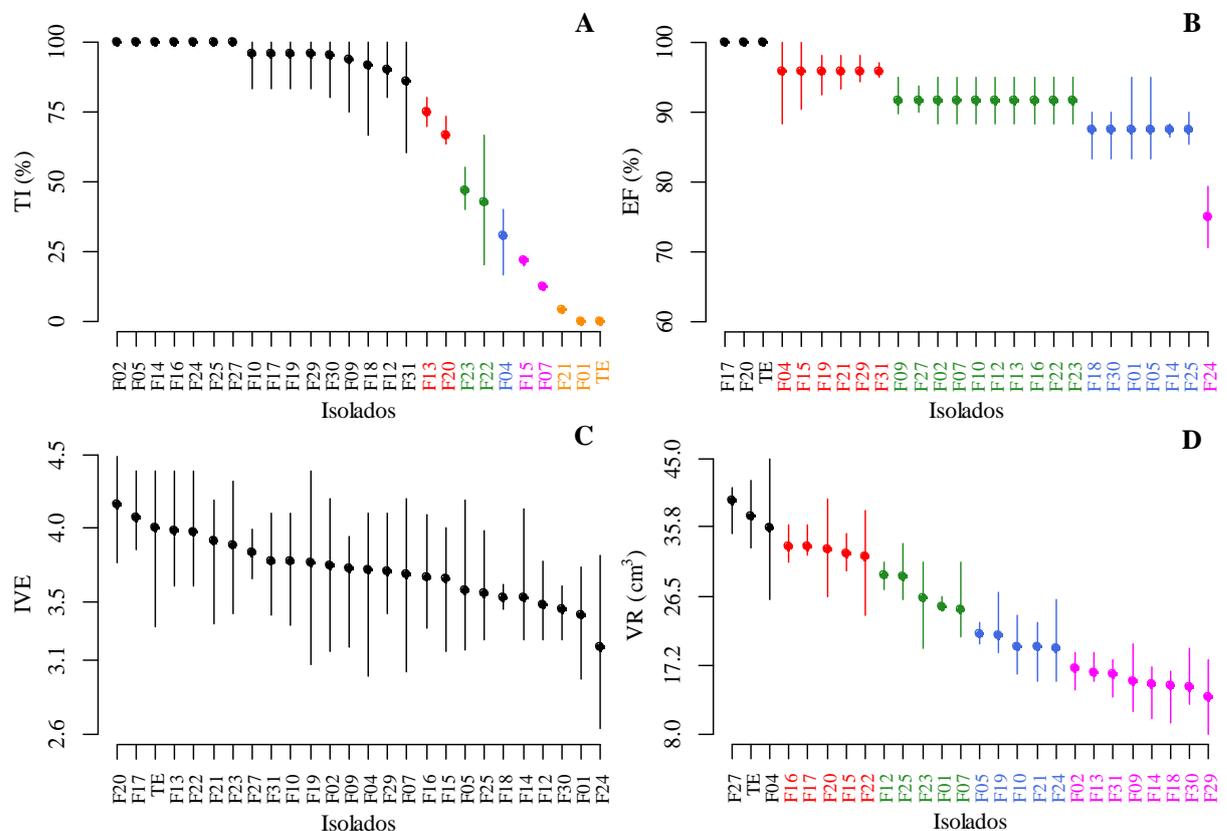


Figura 6 - Taxa de infecção (TI), estande final (EF), índice de velocidade de emergência (IVE) e volume de raízes (VR) oriundos de sementes de feijão-fava var. ‘Orelha de Vó’, inoculadas com *Fusarium* spp., aos 21 dias após a semeadura. F01, F04 e F22: *F. hainanense*; F02: *F. contaminatum*; F05, F10, F14, F16, F17, F24 e F27: *F. verticillioides*; F07 e F18: *F. caatingaense*; F09: *F. annulatum*; F12, F13 e F31: *Fusarium* sp.; F15: *F. napiforme*; F19 e F20: *F. lacertarum*; F21 e F29: *F. sulawesiense*; F23: *F. pernambucanum*; F25: *F. fabacearum* e F30: *F. irregulare*. Médias seguidas de cores diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Para o índice de velocidade de emergência (Figura 7C) não foi constatado diferença significativa entre os isolados, mantendo-se comportamento semelhante à testemunha.

Com relação ao volume de raízes (Figura 6D), observa-se que os isolados de *Fusarium* spp. afetaram significativamente o sistema radicular das plantas, com destaque para F2 de *F. contaminatum*, F9 de *F. annulatum*, F14 de *F. verticillioides*, F18 de *F. caatingaense*, F29 de *F. sulawesiense*, F30 de *F. irregulare*, F13 e F31 de *Fusarium* sp. Os isolados F4 de *F. hainanense* e F27 de *F. verticillioides* não causaram redução aparente do sistema radicular, quando comparados à testemunha.

Os isolados de *Fusarium* afetaram significativamente o comprimento da parte aérea quando comparados à testemunha, exceto os isolados F12 de *Fusarium* sp. e F20 de *F. lacertarum* (Figura 7A). Em contraste, apenas os isolados F18 de *F. caatingaense*, F21 e F29 de *F. sulawesiense* e F27 de *F. verticillioides* apresentaram maior agressividade sobre as sementes de feijão-fava, comprometendo o desenvolvimento radicular das plantas (Figura 7B).

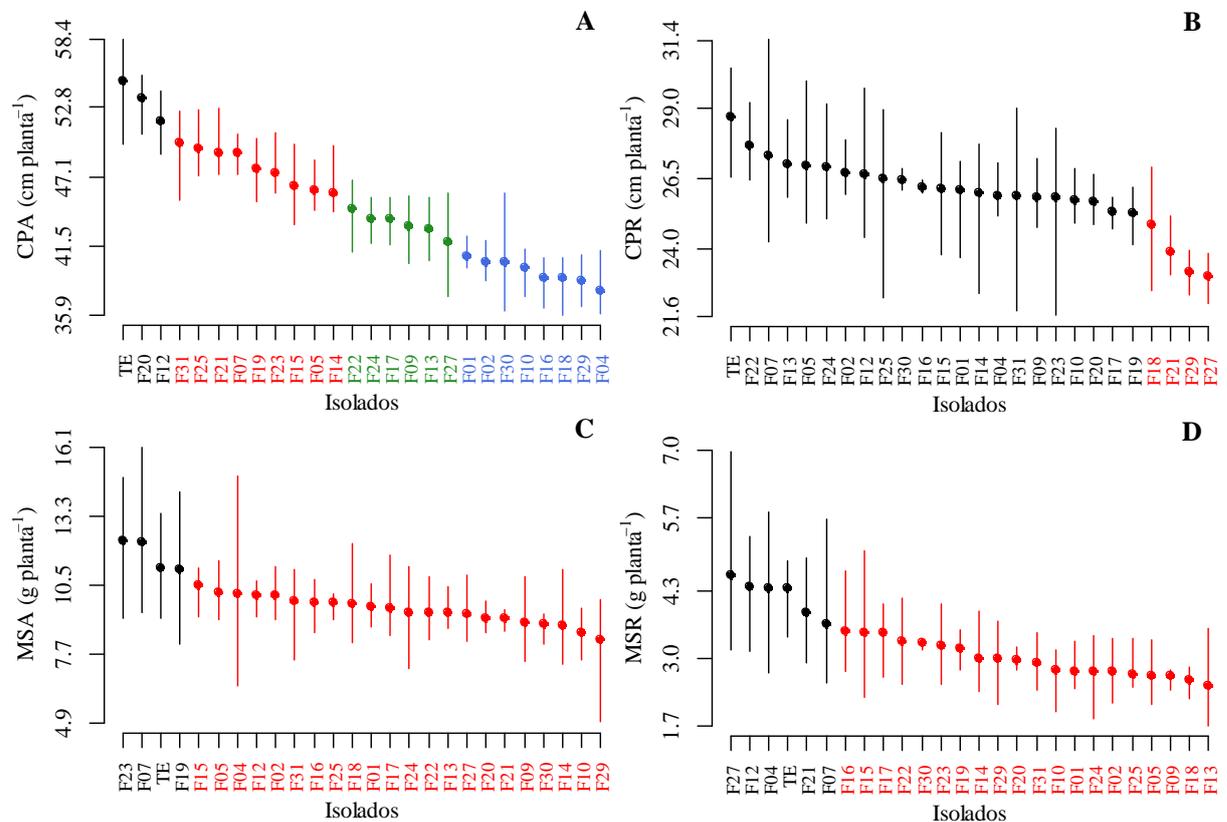


Figura 7 - Comprimento da parte aérea (CPA), raízes (CPR), massa seca da parte aérea (MSA) e raízes (MSR) oriundos de sementes de feijão-fava var. ‘Orelha de Vó’, inoculadas com *Fusarium* spp., aos 21 dias após a semeadura. F01, F04 e F22: *F. hainanense*; F02: *F. contaminatum*; F05, F10, F14, F16, F17, F24 e F27: *F. verticillioides*; F07 e F18: *F. caatingaense*; F09: *F. annulatum*; F12, F13 e F31: *Fusarium* sp.; F15: *F. napiforme*; F19 e F20: *F. lacertarum*; F21 e F29: *F. sulawesiense*; F23: *F. pernambucanum*; F25: *F. fabacearum* e F30: *F. irregulare*. Médias seguidas de cores diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

A massa seca da parte aérea foi afetada significativamente pelos isolados de *Fusarium* quando comparados à testemunha, com exceção dos isolados F7 de *F. caatingaense*, F19 de *F. lacertarum* e F23 de *F. pernambucanum* (Figura 7C). Já para a massa seca de raízes, observou-se comportamento semelhante em relação à testemunha, com exceção dos isolados F4 de *F. hainanense*, F7 de *F. caatingaense*, F12 de *Fusarium* sp., F21 de *F. sulawesiense* e F27 de *F. verticillioides* (Figura 7D).

Quando as sementes são infectadas com patógenos podem ser identificadas desde a germinação reduzida, outros danos durante a fase de crescimento da planta até a colheita e pós-colheita (JACOBSEN et al., 2019), corroborando com os resultados obtidos.

A colonização do sistema vascular e a transmissão via sementes-plântulas dependem de características específicas da interação patógeno-hospedeiro. Portanto, vários fatores podem favorecer o avanço da doença no campo, destacando a quantidade e a localização do inóculo nas sementes, temperatura, umidade e microflora do solo, capacidade de sobrevivência nas sementes e o genótipo do hospedeiro (DITA et al., 2018).

A influência dos isolados de *Fusarium* spp. na emergência das plantas, no comprimento da parte aérea e das raízes pode ser observada através do índice de vigor (Figura 8). Os maiores índices de vigor foram observados nas sementes inoculadas com os isolados F7 de *F. caatingaense* (7071,5), F12 e F31 de *Fusarium* sp. (7263,5 e 7197,7), F15 de *F. napiforme* (6951,5), F20 de *F. lacertarum* (7929,5), F21 de *F. sulawesiense* (6981,7) e F22 de *F. hainanense* (6909,9) quando comparados aos demais, não diferindo da testemunha (8364,3).

Embora não tenha ocorrido diferença significativa para esses isolados, foi observado uma redução no vigor das plantas na faixa de 5,2 a 17,4% em relação à testemunha. Para os demais, essa redução variou de 19,6 a 30,2% (Figura 9). Para infectar uma semente, os fungos utilizam enzimas como as celulases, pectinases e proteases, responsáveis por degradarem a membrana celular, consumindo dessa forma seu material de reserva (FRANÇA NETO et al., 2016).

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com Sousa et al. (2022) ao verificarem a transmissibilidade de *F. verticillioides* em sementes de milho, constataram que a infecção em diferentes estádios fenológicos afetou significativamente a produtividade. Esses autores ainda verificaram que, a infecção, além de estar relacionada à qualidade sanitária, pode afetar a germinação e o vigor e acelerar o processo de deterioração durante o armazenamento.

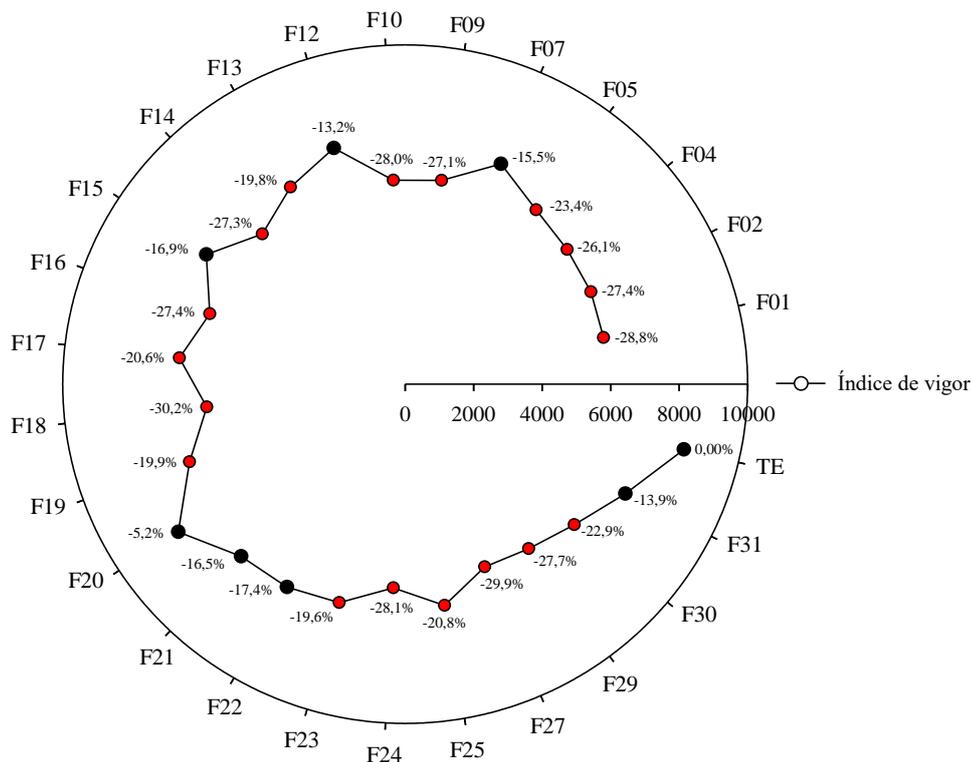


Figura 8. Índice de vigor de plantas de feijão-fava var. 'Orelha de Vó', oriundas de sementes inoculadas com *Fusarium* spp., aos 21 dias após a semeadura. F01, F04 e F22: *F. hainanense*; F02: *F. contaminatum*; F05, F10, F14, F16, F17, F24 e F27: *F. verticillioides*; F07 e F18: *F. caatingaense*; F09: *F. annulatum*; F12, F13 e F31: *Fusarium* sp.; F15: *F. napiforme*; F19 e F20: *F. lacertarum*; F21 e F29: *F. sulawesiense*; F23: *F. pernambucanum*; F25: *F. fabacearum* e F30: *F. irregulare*. Médias seguidas de cores diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

4. CONCLUSÃO

Onze espécies de *Fusarium* (*F. hainanense*, *F. caatingaense*, *F. lacertarum*, *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum*, *F. irregulare*, *F. verticillioides*, *F. annulatum*, *F. napiforme*, *F. contaminatum* e *F. fabacearum*) foram identificadas em sementes de feijão-fava na Paraíba.

Este é o primeiro relato no mundo das espécies *F. hainanense*, *F. lacertarum*, *F. irregulare*, *F. annulatum*, *F. napiforme*, *F. contaminatum* e *F. fabacearum* infectando sementes de feijão-fava.

A espécie *F. verticillioides* foi a mais prevalente associada às sementes de feijão-fava, estando restrita às variedades Cara Larga, Orelha de Vó e Orelha de Veia.

Todos os isolados de *F. verticillioides* e um de *F. hainanense* mostraram-se positivos quanto à presença do gene *FUM1* preditivo da fumonisina.

Nenhuma dos isolados apresentou capacidade de causar doenças em plantas de feijão-fava, no entanto, afetaram negativamente os parâmetros fisiológicos das mesmas.

REFERÊNCIAS

- ABDUL-BAKI, A.; ANDERSON, J. Relationship between decarboxylation of glutamic acid and vigour in soyabean seed. **Crop Science**, v. 13, n. 2, p. 227-232, 1973.
- AFOLABI, O. O.; BIGIRIMANA, V. P.; HUA, G. K. H.; ONI, F. E.; BERTIER, L.; ONWUGHALU, J.; OYETUNJI, O. E.; OGUNBAYO, A.; VAN DE VELDE, M.; NYAMANGYOKU, O. I.; SAEGER, S. D.; HÖFTE, M. *Fusarium* and *Sarocladium* species associated with rice sheath rot disease in Sub-Saharan Africa. **Diversity**, v. 15, n. 10, p. 1-22, 2023.
- AMARAL, A. C. T.; KOROIVA, R.; COSTA, A. F.; LIMA, C. S.; OLIVEIRA, N. T. First report of *Fusarium lacertarum* as the causal agent of wilt in *Vigna unguiculata*. **Journal of Plant Pathology**, v. 104, n. 3, p. 1173-1173, 2022.
- AMATULLI, M. T.; SPADARO, D.; GULLINO, M. L.; GARIBALDI, A. Molecular identification of *Fusarium* spp. associated with bakanae disease of rice in Italy and assessment of their pathogenicity. **Plant Pathology**, v. 59, n. 5, p. 839-844, 2010.
- AOKI, T.; O'DONNELL, K.; SCANDIANI, M. M. Sudden death syndrome of soybean in South America is caused by four species of *Fusarium*: *Fusarium brasiliense* sp. nov., *F. cuneirostrum* sp. nov., *F. tucumaniae*, and *F. virguliforme*. **Mycoscience**, v. 46, n. 3, p. 162-183, 2005.
- AVILA, C. F.; MOREIRA, G. M.; NICOLLI, C. P.; GOMES, L. B.; ABREU, L. M.; PFENNING, L. H.; HAIDUKOWSKI, M.; MORETTI, A.; LOGRIECO, A.; DEL PONTE, E. M. *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with Brazilian rice: Phylogeny, morphology and toxigenic potential. **International Journal of Food Microbiology**, v. 306, p. 1-8, 2019.
- BARRETO, G. G.; SANTOS, A. C. S.; PORCINO, M. M.; MATERATSKI, P.; VARANDA, C.; ROSÁRIO FÉLIX, M.; NASCIMENTO, L. C. Antagonism of *Trichoderma* on the control of *Fusarium* spp. on *Phaseolus lunatus* L. **Acta Brasiliensis**, v. 5, n. 2, p. 57-64, 2021.
- BESERRA-JÚNIOR, J. E. A.; BARGUIL, B. M. Feijão-fava: doenças virais e fúngicas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 27, p. 138-153, 2021.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. 1. ed. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.
- CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 42, n. 225, p. 65-72, 1939.
- CHANG, S.; CARNEIRO-LEÃO, M. P.; OLIVEIRA, B. F.; SOUZA-MOTTA, C.; LIMA, N.; SANTOS, C.; OLIVEIRA, N. T. Polyphasic approach including MALDI-TOF MS/MS analysis for identification and characterisation of *Fusarium verticillioides* in Brazilian corn kernels. **Toxins**, v. 8, n. 3, p. 1-13, 2016.

DITA, M.; BARQUERO, M.; HECK, D.; MIZUBUTI, E. S.; STAVER, C. P. Fusarium wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. **Frontiers in plant science**, v. 9, n. 1468, p. 1-49, 2018.

FARIAS, O. R.; CRUZ, J. M. F. L.; VELOSO, J. S.; SILVA, H. A. O.; OLIVEIRA, M. D. M.; FÉLIX, M. R. F.; VARANDA, C. M. R.; MATERATSKI, P.; PODESTA, G. S.; NASCIMENTO, L. C. First report of wilt of *Syzygium malaccensis* caused by a member of the *Fusarium oxysporum* species complex in Brazil. **Plant Disease**, v. 105, n. 4, p. 1207-1207, 2021.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; PÁDUA, G. P.; LORINI, L.; HENNING, F. A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. 1ª ed. Londrina: Embrapa Soja, 2016. p. 84. (Embrapa Soja. Documentos, 380).

GALDINO, A. C. S.; FREITAS, M. B.; BORBA, M. C.; STADNIK, M. J. Phenolic and flavonoid content in roots and hypocotyls of resistant and susceptible bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) during early stage of colonization by *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Tropical Plant Pathology**, v. 46, p. 553-558, 2021.

GARCÉS-FIALLOS, F. R.; BORBA, M. C.; SCHMIDT, É. C.; BOUZON, Z. L.; STADNIK, M. J. Delayed upward colonization of xylem vessels is associated with resistance of common bean to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 149, p. 477-489, 2017.

GIL-SERNA, J.; MATEO, E. M.; GONZÁLEZ-JAÉN, M. T.; JIMÉNEZ, M.; VÁZQUEZ, C.; PATIÑO, B. Contamination of barley seeds with *Fusarium* species and their toxins in Spain: An integrated approach. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 30, n. 2, p. 372-380, 2013.

GORDON, T. R. *Fusarium oxysporum* and the Fusarium wilt syndrome. **Annual review of phytopathology**, v. 55, p. 23-39, 2017.

GUIDO-MORA, A. Z.; BLANCO-MENESES, M.; GRANADOS-MONTERO, M. D. M.; VIÑAS-MENESES, M. Identificación de *Fusarium* en granos de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) en Costa Rica. **Agronomía Costarricense**, v. 45, n. 2, p. 57-69, 2021.

GUO, Z.; YU, Z.; LI, Q.; TANG, L.; GUO, T.; HUANG, S.; MO, J.; HSIANG, T.; LUO, S. *Fusarium* species associated with leaf spots of mango in China. **Microbial Pathogenesis**, v. 150, p. 1-11, 2021.

HAN, S. L.; WANG, M. M.; MA, Z. Y.; RAZA, M.; ZHAO, P.; LIANG, J. M.; GAO, M.; LI, Y. J.; WANG, J. W.; HU, D. M.; CAI, L. *Fusarium* diversity associated with diseased cereals in China, with an updated phylogenomic assessment of the genus. **Studies in Mycology**, v. 104, p. 87-148, 2023.

IVAYANI.; WIDIASTUTI, A.; SURYANTI.; SUHARJO, R.; PRIYATMOJO, A. Fungi associated with rice sheath rot in Lampung, Indonesia. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 55, n. 18, p. 2075-2097, 2022.

- JACOBSEN, K.; OMONDI, B. A.; ALMEKINDERS, C.; ALVAREZ, E.; BLOMME, G.; DITA, M.; ISKRA-CARUANA, M. L.; OCIMATI, W.; TINZAARA, W.; KUMAR, P. L.; STAVAR, C. Seed degeneration of banana planting materials: strategies for improved farmer access to healthy seed. **Plant pathology**, v. 68, n. 2, p. 207-228, 2019.
- JESUS, L. G. A.; TAVARES, L. R.; GOMES, M. F. C.; VALENTE, S. E. S.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; COSTA, M. F. Eficiência de testes colorimétricos para determinação da viabilidade do pólen em acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L). **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 59-64, 2018.
- KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. v. 35. n. 6, p. 1547-1549, 2018.
- KURBESSOIAN, T.; HEIMLICH-VILLALTA, G.; GINNAN, N.; VIEIRA, F. C.; ROLSHAUSEN, P. E.; ROPER, M. C.; STAJICH, J. E. Genome sequence and assembly of 18 *Fusarium* isolates from Florida Citrus under High Huanglongbing disease pressure and California Citrus under low Huanglongbing disease pressure. **Microbiology resource announcements**, v. 12, n. 5, p. 1-4, 2023.
- LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* laboratory manual**. Ames: Blackwell Publishing. 2006. 388p.
- LI, S. N.; ZHANG, W. M. Occurrence of postharvest fruit rot of mango caused by *Fusarium pernambucanum* in China. **Plant Disease**, v. 107, n. 8, p. 2526, 2023.
- LIMA, E. N.; OSTER, A. H.; BORDALLO, P. N.; ARAÚJO, A. A.; SILVA, D. E.; LIMA, C. S. A novel lineage in the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex is one of the causal agents of fusarium rot on melon fruits in Northeast Brazil. **Plant Pathology**, v. 70, n. 1, p. 133-143, 2020.
- LIU, Y. J.; WHELEN, S.; HALL, B. D. Phylogenetic Relationships among Ascomycetes: Evidence from an RNA Polymerase II Subunit. **Molecular biology and evolution**, v. 16, n. 12, p. 1799-1808, 1999.
- LIU, Y.; TANG, J.; ZHOU, Y. Identification and description of a new pathogen causing flower dry rot on *Passiflora edulis* in China. **Plant Disease**, v. 105, n. 7, p. 1967-1975, 2021.
- LOMBARD, L.; SANDOVAL-DENIS, M.; LAMPRECHT, S. C.; CROUS, P. W. Epitypification of *Fusarium oxysporum*—clearing the taxonomic chaos. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 43, n. 1, p. 1-47, 2019.
- LUCENA, F. T.; ALMEIDA, F. A.; TORRES JUNIOR, G. A.; LEITE, M. L. T.; FONSECA, W. L.; CARDOSO, T. A. L. Reaction of lima bean accessions to *Meloidogyne javanica*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 48, n. 1, p. 36-42, 2018.
- MACIEL, M. H. C.; AMARAL, A. C. T.; SILVA, T. D.; BEZERRA, J. D. P.; SOUZA-MOTTA, C. M.; COSTA, A. F.; TIAGO, P. V.; OLIVEIRA, N. T. Evaluation of mycotoxin production and phytopathogenicity of the entomopathogenic fungi *Fusarium caatingaense* and *F. pernambucanum* from Brazil. **Current Microbiology**, v. 78, n. 4, p. 1218-1226, 2021.

- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, 2: 176-177, 1962.
- MARASAS, W. F. O.; RABIE, C. J.; LÜBBEN, A.; NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; WYK, P. V. *Fusarium napiforme*, a new species from millet and sorghum in southern Africa. **Mycologia**, v. 79, n. 6, p. 910-914, 1987.
- MARÍN, P.; MAGAN, N.; VÁZQUEZ, C.; GONZÁLEZ-JAÉN, M. T. Differential effect of environmental conditions on the growth and regulation of the fumonisin biosynthetic gene *FUM1* in the maize pathogens and fumonisin producers *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum*. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 73, n. 2, p. 303-311, 2010.
- MARTÍN, I.; GÁLVEZ, L.; GUASCH, L.; PALMERO, D. Fungal pathogens and seed storage in the dry state. **Plants**, v. 11, n. 22, p. 1-25, 2022.
- MCKINNEY, H. H. Influence of soil, temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v. 26, n. 5, p. 195-217, 1923.
- MEDEIROS ARAÚJO, M. B.; MOREIRA, G. M.; NASCIMENTO, L. V.; NOGUEIRA, G. A.; NASCIMENTO, S. R. C.; PFENNING, L. H.; AMBRÓSIO, M. M. Q. *Fusarium* rot of melon is caused by several *Fusarium* species. **Plant Pathology**, v. 70, n. 3, p. 712-721, 2020.
- MIRGHASEMPOUR, S. A.; STUDHOLME, D. J.; CHEN, W.; ZHU, W.; MAO, B. Molecular and pathogenic characterization of *Fusarium* species associated with corm rot disease in saffron from China. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 5, p. 1-13, 2022.
- MONTOYA-MARTÍNEZ, A. C.; O'DONNELL, K.; BUSMAN, M.; VAUGHAN, M. M.; MCCORMICK, S. P.; SANTILLÁN-MENDOZA, R.; PINEDA-VACA, D.; CLAPES-GARDUNO, L.; FERNÁNDEZ-PAVÍA, S. P.; PLOETZ, R. C.; BENÍTEZ-MALVIDO, J.; MONTERO-CASTRO, J. C.; RODRÍGUEZ-ALVARADO, G. Weeds harbor *Fusarium* species that cause malformation disease of economically important trees in Western Mexico. **Plant Disease**, v. 106, n. 2, p. 612-622, 2022.
- MORALES-RODRÍGUEZ, I.; YAÑZ-MORALES, M. J.; SILVA-ROJAS, H. V.; GARCÍA-DE-LOS-SANTOS, G.; GUZMAN-DE-PENA, D. A. Biodiversity of *Fusarium* species in Mexico associated with ear rot in maize, and their identification using a phylogenetic approach. **Mycopathologia**, v. 163, p. 31-39, 2007.
- MOTA, J. M.; MELO, M. P.; SILVA, F. F. S.; SOUSA, E. M. J.; SOUSA, E. S., BARGUIL, B. M.; BESERRA-JÚNIOR, J. E. A. Fungal diversity in lima bean seeds. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 11, n. 1, p. 79-87, 2017.
- NAYOGYANI, A.; KASIAMDARI, R. Characterization of the sheath blight complex of fungi in rice (*Oryza sativa* L.). **Egyptian Journal of Botany**, v. 62, n. 3, p. 739-745, 2022.
- O'DONNELL, K.; GUEIDAN, C.; SINK, S.; JOHNSTON, P.R.; CROUS, P. W.; GLENN, A.; RILEY, R.; ZITOMER, N. C.; COLYER, P.; WAALWIJK, C.; VAN DER LEE, T.; MORETTI, A.; KANG, S.; KIM, H-S.; GEISER, D. M.; JUBA, J. H.; BAAYEN, R.P.;

CROMEY, M. G.; BITHELL, S.; SUTTON, D.A.; SKOVGAARD, K.; PLOETZ, R.; KISTLER, H. C.; ELLIOTT, M.; DAVIS, M.; SARVER, B. A. J. A two-locus DNA sequence database for typing plant and human pathogens within the *Fusarium oxysporum* species complex. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, n. 12, p. 936-948, 2009.

O'DONNELL, K.; ROONEY, A. P.; PROCTOR, R. H.; BROWN, D. W.; MCCORMICK, S. P.; WARD, T. J.; FRANSEN, R. J. N.; LYSOE, E.; REHNER, S. A.; AOKI, T.; ROBERT, V. A. R. G.; CROUS, P. W.; GROENEWALD, J. Z.; KANG, S.; GEISER, D. M. Phylogenetic analyses of RPB₁ and RPB₂ support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. **Fungal Genetics and Biology**, v. 52, p. 20-31, 2013.

O'DONNELL, K.; CIGELNIK, E.; NIRENBERG, H. I. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Mycologia**, v. 90, n. 3, p. 465-493, 1998.

ONO, L. T.; SILVA, J. J.; SOTO, T. S.; DONÁ, S.; IAMANAKA, B. T.; FUNGARO, M. H. P.; TANIWAKI, M. H. Fungal communities in Brazilian cassava tubers and food products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 384, p. 1-10, 2023.

PARRA, M. A.; GÓMEZ, J.; AGUILAR, F. W.; MARTÍNEZ, J. A. *Fusarium annulatum* causes Fusarium rot of cantaloupe melons in Spain. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 61, n. 2, p. 269-277, 2022.

PATIÑO, B.; MIRETE, S.; GONZÁLEZ-JAÉN, M. T.; MULÉ, G.; RODRÍGUEZ, M. T.; VÁZQUEZ, C. PCR detection assay of fumonisin-producing *Fusarium verticillioides* strains. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 6, p. 1278-1283, 2004.

PAULINO, J. F. C.; ALMEIDA, C. P.; BARBOSA, C. C. F.; MORAES, G.; GONÇALVES, C.; BUENO, C. J.; HARAKAVA, R.; CARBONELL, S. A. M.; CHIORATO, A. F.; BENCHIMOL-REIS, L. L. Molecular and pathogenicity characterization of *Fusarium oxysporum* species complex associated with Fusarium wilt of common bean in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 47, n. 4, p. 485-494, 2022.

PRAMUNADIPTA, S.; WIDIASTUTI, A.; WIBOWO, A.; PRIYATMOJO, A. Mycotoxins detection and pathogenicity of *Fusarium* spp. pathogen of rice sheath rot disease. **In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2023. v. 1172, p. 1-10.

PRAMUNADIPTA, S.; WIDIASTUTI, A.; WIBOWO, A.; SUGA, H.; PRIYATMOJO, A. Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with the sheath rot disease of rice (*Oryza sativa*) in Indonesia. **Journal of Plant Pathology**, v. 104, p. 251-267, 2022. Publishing. 2006. 388p.

QIU, J.; LU, Y.; HE, D.; LEE, Y. W.; JI, F.; XU, J.; SHI, J. *Fusarium fujikuroi* species complex associated with rice, maize, and soybean from Jiangsu Province, China: Phylogenetic, pathogenic, and toxigenic analysis. **Plant Disease**, v. 104, n. 8, p. 2193-2201, 2020.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 31 out. 2023.

REEB, V.; LUTZONI, F.; ROUX, C. Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with special emphasis on the lichen-forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 32, n. 3, p. 1036-1060, 2004.

REID, L. M.; NICOL, R. W.; OUELLET, T.; SAVARD, M.; MILLER, J. D. YOUNG, J. C.; STEWART, D. W.; SCHAAFSA, A. W. Interaction of *Fusarium graminearum* and *F. moniliforme* in maize ears: disease progress, fungal biomass, and mycotoxin accumulation. **Phytopathology**, v. 89, n. 11, p. 1028-1037, 1999.

RODRIGUES, G. F.; MIGLIORINI, P.; JUNGES, E.; SILVA, R. N. O.; CHAGAS, H. L.; NUNES, A.; GULARTE, J. A.; TUNES, L. V. M. Inoculação artificial de *Fusarium oxysporum* em sementes de *Phaseolus vulgaris*. **Scientia Plena**, v. 12, n. 7, p. 1-6, 2016.

SÁNCHEZ-RANGEL, D.; SANJUAN-BADILLO, A.; PLASENCIA, J. Fumonisin production by *Fusarium verticillioides* strains isolated from maize in Mexico and development of a polymerase chain reaction to detect potential toxigenic strains in grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 22, p. 8565-8571, 2005.

SANDOVAL-DENIS, M.; GUARNACCIA, V.; Polizzi, G.; Crous, P. W. Symptomatic Citrus trees reveal a new pathogenic lineage in *Fusarium* and two new *Neocosmospora* species. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 40, n. 1, p. 1-25, 2018.

SANTIAGO, M. F.; SANTOS, A. M.; INÁCIO, C. P.; LIRA NETO, A. C.; ASSIS, T. C.; NEVES, R. P.; DOYLE, V. P.; VELOSO, J. S.; VIEIRA, W. A. S.; CÂMARA, M. P. S.; LARANJEIRA, D. First report of *Fusarium lacertarum* causing cladode rot in *Nopalea cochenellifera* in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 100, p. 611-611, 2018.

SANTOS, A. C. S.; TRINDADE, J. V. C.; LIMA, C. S.; BARBOSA, R. N.; COSTA, A. F.; TIAGO, P. V.; OLIVEIRA, N. T Morphology, phylogeny, and sexual stage of *Fusarium caatingaense* and *Fusarium pernambucanum*, new species of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with insects in Brazil. **Mycologia**, v. 111, n. 2, p. 244-259, 2019.

SILVA, S. I. A. SOUZA, T.; SANTOS, D.; SOUZA, R. F. S. Avaliação dos componentes de produção em variedades crioulas de fava cultivadas no Agreste da Paraíba. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 3, p. 731-742, 2019.

SOUSA, E. S.; MELO, M. P.; MOTA, J. M.; SOUSA, E. M. J.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A.; MATOS, K. S. First report of *Fusarium falciforme* (FSSC 3+ 4) causing root rot in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Brazil. **Plant Disease**, v. 101, n. 11, p. 1954-1954, 2017.

SOUSA, M. J. O.; ALMEIDA, F. A.; LEITE, M. L. T.; FONSECA, W. L. F.; LOPES, K. P.; GOMES C. D. L.; SAMPAIO E. G.; SANTOS E. N.; GONDIMA. R. O. Biocidal potential of some organic by-products on sanitary and physiological quality of red and white fava beans seeds. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, n. 3, p. 462-468, 2020.

SOUSA, R. R.; OSÓRIO, P. R. A.; NOSÉ, N. P.; ARRUDA, G. L.; FERREIRA, T. P. S., HAESBAERT, F. M.; SANTOS, G. R. Detection and transmission of *Fusarium verticillioides* in corn seeds according to the plant stage. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 44, p. 1-11, 2022.

SOUZA, W. C. O.; NASCIMENTO, L. C.; OLIVEIRA, M. D. M.; PORCINO, M. M.; SILVA, H. A. O. Genetic diversity of *Fusarium* spp. in pineapple 'Pérola' cultivar. **European Journal of Plant Pathology**, v. 150, n. 4, p. 853-868, 2018.

STADEN, R.; BEAL, K. F.; BONFIELD, J. K. The Staden package. In: MISENER S.; KRAWETZ S. A (eds). **Bioinformatics methods and protocols**. Humana, p. 115-130, 1998.

SUMMERELL, B.A. Resolving *Fusarium*: current status of the genus. **Annual review of phytopathology**, v. 57, p. 323-339, 2019.

SUN, Q.; ZHANG, S. L.; XIE, Y. J.; XU, M. T.; HERRERA-BALANDRANO, D. D.; CHEN, X.; WANG, S. Y.; SHI, X. C.; LABORDA, P. Identification of new *Fusarium sulawense* strains causing soybean pod blight in china and their control using carbendazim, dipicolinic acid and kojic acid. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, V. 19, n. 17, p. 1-17, 2022.

TEIXEIRA, H.; MACHADO J. C. Transmissibilidade e efeito de *Acremonium strictum* em sementes de milho. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 27, n. 5, p.1045-1052, 2003.

THOMPSON, J. D.; GIBSON T. J.; PLEWNIAK, F.; JEANMOUGIN F.; HIGGINS D. G. The ClustalX windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic acids research**, v. 25, n. 24, p. 4876-4882, 1997.

VELOSO, J. S.; CÂMARA, M. P.; LIMA, W. G.; MICHEREFF, S. J.; DOYLE, V. P. Why species delimitation matters for fungal ecology: Colletotrichum diversity on wild and cultivated cashew in Brazil. **Fungal biology**, v. 122, n. 7, p. 677-691, 2018.

VILLANI, A.; MORETTI, A.; SAEGER, S.; HAN, Z.; MAVUNGU, J. D. D.; SOARES, C. M. G.; PROCTOR, R. H.; VENÂNCIO, A.; LIMA, N.; STEA, G.; PACIOLLA, C.; LOGRIECO, A. F.; SUSCA, A. A polyphasic approach for characterization of a collection of cereal isolates of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. **International Journal of Food Microbiology**, v. 234, p. 24-35, 2016.

VILLANI, A.; PROCTOR, R. H.; KIM, H. S.; BROWN, D. W.; LOGRIECO, A. F.; AMATULLI, M. T.; MORETTI, A.; SUSCA, A. Variation in secondary metabolite production potential in the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex revealed by comparative analysis of 13 genomes. **BMC genomics**, v. 20, n. 1, p. 1-22, 2019.

WANG, M. M.; CHEN, Q.; DIAO, Y. Z.; DUAN, W. J.; CAI, L. *Fusarium incarnatum-equiseti* complex from China. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 43, n. 1, p. 70-89, 2019.

WANG, W.; LIANG, X.; LI, Y.; WANG, P.; KELLER, N. P. Genetic regulation of mycotoxin biosynthesis. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 1, p. 1-17, 2023.

- XIA, J. W.; SANDOVAL-DENIS, M.; CROUS, P. W.; ZHANG, X. G.; LOMBARD, L. Numbers to names-restyling the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 43, n. 1, p. 186-221, 2019.
- YILMAZ, N.; SANDOVAL-DENIS, M.; LOMBARD, L.; VISAGIE, C. M.; WINGFIELD, B. D.; CROUS, P. W. Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 46, n. 1, p. 129-162, 2021.
- YU, H.; YANG, H.; HARIDAS, S.; HAYES, R. D.; LYNCH, H.; ANDERSEN, S.; NEWMAN, M.; LI, G.; MARTÍNEZ-SOTO, D.; MILO-COCHAVI, S.; AYHAN, D. H.; ZHANG, Y.; GRIGORIEV, I. V.; MA, L. J. Conservation and expansion of transcriptional factor repertoire in the *Fusarium oxysporum* species complex. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 3, p. 1-23, 2023.
- ZHANG, X. P.; XIA, J. W.; LIU, J. K.; ZHAO, D.; KONG, L. G.; ZHU, X. P. First report of *Fusarium pernambucanum* causing fruit rot of muskmelon in China. **Plant Disease**, v. 106, n. 7, p. 1997, 2021.
- ZHOU, X.; O'DONNELL, K.; AOKI, T.; SMITH, J. A.; KASSON, M. T.; CAO, Z. M. Two novel *Fusarium* species that cause canker disease of prickly ash (*Zanthoxylum bungeanum*) in northern China form a novel clade with *Fusarium torreyae*. **Mycologia**, v. 108, n. 4, p. 668-681, 2016.