

Fisiologia e Produção do Feijoeiro sob Ação da Tintura de *Ligustrum lucidum* no Manejo da Antracnose

Regina Lopes dos Santos¹, Cacilda Marcia Duarte Rios Faria¹, Carla Daiane Leite¹, Juliane Maciel Henschel¹, Adriano Suchoronzek¹, Vanderlei Aparecido de Lima², Patricia Carla Giloni de Lima¹

¹Universidade Estadual do Centro-Oeste, Rua Simeão Varela de Sá, nº 03, 85040-080, Guarapuava, Brasil

²Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Via do Conhecimento, km 1, 85503-390 Pato Branco, Brasil

Autor para correspondência: *re.lp.st@gmail.com

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da tintura hidroalcoólica de *Ligustrum lucidum* no manejo da antracnose do feijoeiro. O experimento foi realizado em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com 5 tratamentos e 3 repetições, sendo os tratamentos: água (controle negativo); mancozebe (controle positivo); 10% (T-10%); 20% (T-20%) e 30% (T-30%) de tintura de *L. lucidum*. Os dados foram avaliados pela distribuição Gama, utilizando o programa estatístico Ambiente R. O fungicida mancozebe reduziu a severidade da doença e, assim como a tintura a 30%, incrementou os componentes de produção. Observou-se decréscimo nos pigmentos clorofilianos e parâmetros de fluorescência 48 h após inoculação do patógeno. Estes resultados podem ser explicados em função do ciclo de desenvolvimento do patógeno, que interfere no metabolismo foliar, levando a degradação destes pigmentos, causando danos ao aparato fotossintético.

Palavras-chaves: *Colletotrichum lindemuthianum*, fluorescência da clorofila *a*, ligustro, pigmentos.

ABSTRACT: Physiology and production of common bean under the action of *Ligustrum lucidum* tincture in the management of anthracnose. This study aimed to evaluate the effect of water-alcohol tincture of *Ligustrum lucidum* in the management of anthracnose. The experiment was conducted in completely randomized design (CRD) with 5 treatments and three replications with treatments: water (negative control); mancozeb (positive control); 10% (T-10%); 20% (T-20%) and 30% (T-30%) tincture of *L. lucidum*. The data were evaluated by the gamma distribution, using the statistical software environment R. The fungicide mancozeb reduced the severity of the disease, as well as the dye 30% increased yield components. It was observed decrease in chlorophyllian pigments and fluorescence parameters 48h after inoculation of the pathogen. These results can be explained on the basis of pathogen development cycle, which interferes with the leaf metabolism, leading to degradation of these pigments, causing damage to the photosynthetic apparatus.

Keywords: *Colletotrichum lindemuthianum*, chlorophyll *a* fluorescence, privet, pigments.

INTRODUÇÃO

O feijão é um dos grãos comestíveis mais importantes no mundo, e possui grande representatividade no Brasil. Segundo a CONAB (2017) estima-se que a produção nacional na safra 2016/2017 seja de 3.418,3 mil toneladas em uma área de 3.179,8 mil hectares.

A incidência de doenças é uma das principais causas da redução da produtividade de plantas cultivadas. Entre as doenças fúngicas que mais afetam o feijão, Chiorato et al. (2015) cita a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Lams. – Scrib.

O controle de fungos, como o *C. lindemuthianum*, é realizado principalmente com a aplicação de fungicidas, porém a demanda por produtos agroecológicos vem incentivando a adoção de métodos alternativos do controle de doenças, como a utilização de extratos vegetais (Talamini e Stadnik 2004).

O ligustro (*Ligustrum lucidum* W.T.Aiton) é uma árvore originária da China, pertencente à família Oleaceae. Suas propriedades imunoestimulantes e antioxidantes, que protegem as células da peroxidação lipídica decorrente do estresse oxidativo, têm sido confirmadas em células animais

Recebido para publicação em 22/09/2017

Aceito para publicação em 14/12/2021

Data de publicação em 25/12/2021

ISSN 1983-084X

© 2019 Revista Brasileira de Plantas Medicinais/Brazilian Journal of Medicinal Plants.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

(Pang et al. 2015). Devido a tais propriedades, plantas desta família têm sido utilizadas na medicina popular chinesa para o tratamento de várias doenças (Wu et al. 2011). Embora seu efeito farmacológico tenha sido confirmado no tratamento de doenças, não há trabalhos referentes à utilização de seus extratos no manejo de doenças na agricultura. Neste sentido, torna-se interessante investigar seu potencial antifúngico.

Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito da tintura hidroalcoólica de *Ligustrum lucidum* no manejo da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*).

MATERIAL E MÉTODOS

Local e cultivar utilizada

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do laboratório de Fitopatologia, Departamento de Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO, localizada no município de Guarapuava, PR, com latitude 25°41' S, longitude 51°38' O e altitude de 1.100 metros. O clima segundo a classificação de Köppen é do tipo Cfb (Clima subtropical úmido) mesotérmico, com verões frescos e sem estação seca definida (Wrege et al. 2012; IAPAR 2016).

Neste experimento, foram utilizadas plantas da cultivar de feijão preto comum IPR-Tuiuiú, de crescimento indeterminado tipo II e porte ereto. A semeadura foi realizada no dia 06 de maio de 2015, em vasos de 3 l, com substrato Plantmax®, terra e areia na proporção de 1:1:1 (v/v), seguindo-se os tratos culturais recomendados para a cultura.

Produtos utilizados no controle do patógeno

Os tratamentos consistiram de um controle positivo, com aplicação de Mancozebe na concentração de 2 g/l, um controle negativo utilizando água, e três concentrações da tintura hidroalcoólica de *L. lucidum*: 10% (T-10%); 20% (T-20%) e 30% (T-30%).

A tintura hidroalcoólica foi obtida de folhas de *L. lucidum* coletadas em dezembro de 2014, no Campus CEDETEG da UNICENTRO, PR. Após a coleta, 400 g de folhas foram desinfetadas com hipoclorito de sódio, lavadas e trituradas em álcool etílico 95%, permanecendo armazenadas durante 16 dias, com leve agitação diária. Após esse período, foi obtida uma solução estoque da tintura, a partir da filtração da solução de extração, ajustando-se o volume com álcool etílico 95% para 1 l. A partir desta solução estoque, foram preparadas as três concentrações da tintura, as quais foram diluídas em água a 10, 20 ou 30% (v/v).

Obtenção e manutenção do inóculo e preparo da suspensão

O inóculo de *C. lindemuthianum* utilizado foi obtido a partir do isolamento em lesões de antracnose em vagens de feijoeiro infectadas. O fungo coletado foi multiplicado em meio batata-dextrose-ágar (BDA) em vagens de feijoeiro mantidos em BOD por 10 dias a 25 °C. Após esse período obteve-se a suspensão de inóculo, na concentração de 1×10^6 esporos/ml. O inóculo e os tratamentos foram aplicados na superfície abaxial e adaxial da folha de plantas em estágio V3 (1ª folha trifoliada) conforme apresentado na Tabela 1.

As pulverizações foram realizadas na superfície abaxial e adaxial das folhas, com auxílio de um pulverizador de pressão. Os tratamentos foram aplicados até o ponto de escorrimento, iniciando em 10 ml e terminando em 20 ml de volume de calda, por planta, conforme estágio de desenvolvimento.

Análises realizadas

As variáveis avaliadas foram: severidade; produção; pigmentos clorofilianos e fluorescência da clorofila *a*. A severidade da antracnose foi quantificada utilizando escala diagramática elaborada por Dalla Pria e Silva (2010). Foram realizadas cinco avaliações, uma a cada 6 dias, por dois avaliadores. A severidade foi determinada em três trifólios do terço médio, previamente marcados, de duas plantas por tratamento. Com os dados de severidade foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AAP), segundo Campbell e Madden (1990).

O experimento foi conduzido até o estágio de maturação dos grãos. A colheita foi realizada manualmente, determinando-se o número de vagens por planta e de grãos por vagem, com posterior secagem até 13% de umidade. Após a secagem, quantificou-se a produção por planta e a massa de mil grãos (MMG) com 3 subamostras por tratamento, com 100 grãos cada.

A estimativa do teor de pigmentos clorofilianos e carotenoides totais foi realizada em três discos foliares (600 mm²), provenientes de cada tratamento, segundo a metodologia proposta por Lichtenthaler e Wellburn (1983) com modificações realizadas por Porra (2002).

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada utilizando um fluorômetro portátil (Portable Chlorophyll Fluorometer, PAM-2500, Walz, 2008) no período de 8 h às 10 h, sem adaptação ao escuro, em trifólios completamente expandidos do terço médio das plantas. Foram realizadas avaliações ao longo do tempo, conforme com a Tabela 1.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: F'_0 (fluorescência mínima da folha adaptada a luz),

TABELA 1. Datas das avaliações, das aplicações da tintura de *Ligustrum lucidum* e da inoculação do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* plantas de feijoeiro. Estádio de desenvolvimento segundo escala fenológica proposta por Ciat (1986).

Avaliação/Aplicação/ Inoculação	Hora	Data	Dias após semeadura	Estádio
12hA1Apl	08:00	28/03/2015	23 DAS	V3 1ª folha trifoliada
1ª aplicação	19:00	28/03/2015	23 DAS	
12hD1Apl	08:00	29/03/2015	24 DAS	V4 3ª folha trifoliada
Inoculação (In.)	19:00	31/03/2015	26 DAS	
48hDIn.	08:00	02/04/2015	28 DAS	R5 pré-floração
7ddDIn.	08:00	08/04/2015	35 DAS	
12hA2Apl	08:00	10/04/2015	37 DAS	
2ª aplicação	19:00	10/04/2015	37 DAS	R7 formação das vagens
12hD2Apl	08:00	11/04/2015	38 DAS	
12hA3Apl	08:00	28/04/2015	53 DAS	
3ª aplicação	19:00	28/04/2015	53 DAS	
12hD3Apl	08:00	29/04/2015	54 DAS	

Sendo: DAS, Dias Após a Semeadura; -A-Apl, período antes das aplicações (1ª, 2ª e 3ª); -D-Apl, período depois das aplicações (1ª, 2ª e 3ª); -DIn, período depois da inoculação.

F'_v/F'_m (rendimento quântico máximo do PSII), F'_q/F'_v (fator de eficiência do PSII), Φ_{II} (rendimento quântico fotoquímico efetivo na conversão de energia no PSII) e ETR (taxa de transferência relativa de elétrons, $\mu\text{mol elétrons}/\text{m}^2\text{s}$).

Análises estatísticas

O experimento foi realizado em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com 5 tratamentos e 3 repetições. Os dados foram avaliados pela distribuição Gama, utilizando o programa estatístico Ambiente R e R Studio (R Core Team 2015). Para realizar o ajuste de dados à distribuição Gama, o controle ou um tratamento alvo é contrastado com os demais tratamentos do conjunto total de dados. Neste estudo o controle negativo (água) e a avaliação denominada 48hDIn foram contrastadas com o restante dos tratamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Severidade

De acordo com a distribuição Gama houve diferença significativa em nível de 5% para a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para a severidade apenas para o tratamento com mancozebe, com redução de 60% de severidade da antracnose em relação ao controle negativo (Figura 1). Os outros tratamentos com concentrações de 10%, 20% e 30% da tintura de *L. lucidum* não diferiram estatisticamente da testemunha com água.

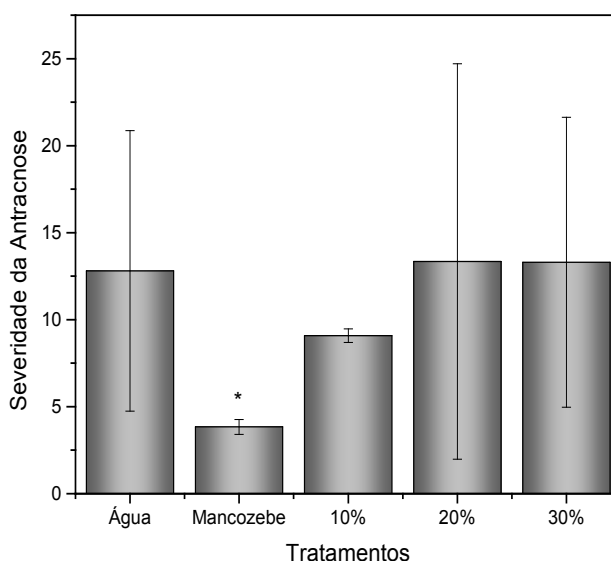


FIGURA 1. Severidade da antracnose em feijoeiro tratado com tintura de *Ligustrum lucidum* e inoculado com *Colletotrichum lindemuthianum*, na região centro-sul do Paraná, Brasil.

Jasper (2010), avaliando o efeito de 7 fungicidas na cultivar IPR-88 Uirapuru, entre eles o hidróxido de fentina, também utilizado no controle de antracnose, verificou melhores resultados no controle de antracnose após 3 aplicações, sendo que este fungicida também elevou a massa de

mil grãos e a produtividade. Neste trabalho, 3 aplicações também foram suficientes para o controle da antracnose com o fungicida Mancozebe, com redução de 70% da infecção em relação a água, porém, as doses da tintura não apresentaram efeito positivo no controle da doença.

Componentes de produção

Diferenças significativas foram observadas nos componentes de produção de plantas de feijoeiro (Tabela 2), sob efeito da tintura hidroalcoólica de *L. lucidum*. Não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) no número de grãos por vagem quando comparadas com o controle com água (dados não apresentados).

Para o componente número de vagens por planta houve diferença significativa no tratamento com mancozebe, com incremento de 65%. Diferenças significativas também foram observadas no tratamento com aplicação de tintura a 10%, a qual apresentou o menor número de vagens por planta com redução de 24,6% em relação à água (Tabela 2).

A aplicação de mancozebe levou ao incremento de 73,7% na produção, e a aplicação da tintura a 20% diminuiu a produção em 37,8%. Observou-se diferenças entre a massa de mil grãos (MMG) das plantas tratadas com água e os demais tratamentos, com exceção da tintura a 10%, sendo que a aplicação do fungicida mancozebe aumentou a MMG em 10,2% e as tinturas a 20 e 30% aumentaram em 6,9 e 7,7% respectivamente (Tabela 2). Estes resultados são complementares aos dados de severidade, evidenciando que somente a aplicação de mancozebe gerou resposta positiva no controle da antracnose e nos componentes de produção.

Pigmentos clorofilianos

Observaram-se diferenças significativas entre as avaliações para os resultados dos teores de pigmentos antes e após a inoculação com *C. lindemuthianum* (Tabela 3). Entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (dados não apresentados).

O teor de clorofila *a* na 1ª (12hA1Apl) e 2ª (12hD1Apl) avaliações foi maior que nas demais, diferindo do teor observado na avaliação com 48hDIn ($p < 0,1\%$) com *C. lindemuthianum*, o que indica redução dos pigmentos após a ocorrência da infecção (Tabela 3). Em contraste, o teor de clorofila *b* diferiu em todas as avaliações, exceto com 12hD1Apl, com redução após a inoculação ($p < 0,5$ e 1%, Tabela 3). Na relação clorofila *a/b* houveram diferenças entre todas as avaliações realizadas quando comparadas com a avaliação com 48hDIn ($p < 0,1\%$).

As moléculas de clorofila constituem parte importante do aparato fotossintético e, por ser um fungo necrotrófico, *C. lindemuthianum* causa danos diretos no mesófilo foliar, afetando, assim, o aparato fotossintético (Castro et al. 2017; Meyer et al. 2001). Além disso, como o incremento no teor de pigmentos pode ser uma resposta adaptativa a situações de estresse (Lage-Pinto et al. 2008), é possível que alterações no teor de pigmentos tenham relação com os danos gerados pelo patógeno.

O teor de carotenoides foi significativo na 1ª (12hA1Apl) e 2ª (12hD1Apl) avaliações ($p < 0,001$ e 0,5%, respectivamente), com valores superiores às demais avaliações. Lobato et al. (2010) avaliando a relação entre pigmentos e fotossíntese em feijão (cultivar Mexico 222) infectado com *C. lindemuthianum*, também obteve resultados de redução nos pigmentos após a inoculação, sendo que quanto maior o tempo de infecção maior a redução nos pigmentos.

TABELA 2. Componentes de produção: Número de vagens por planta (NV/P), massa de mil grãos (MMG/g) e produção (P/g) por planta em feijoeiro cultivado em estufa, tratado com tintura de *Ligustrum lucidum* e inoculado com *Colletotrichum lindemuthianum*, na região centro-sul do Paraná, Brasil.

Tratamentos	NV/P		P/g		MMG/g	
Água	4,600 (0,00)		4,018 (0,33)		137,274 (4,46)	
Mancozebe	7,600 (0,92)	***	6,979 (0,05)	***	151,361 (3,42)	***
T-10%	3,466 (0,12)	*	3,249 (0,06)	**	142,081 (4,84)	ns
T-20%	3,800 (0,20)	ns	2,497 (0,19)	***	146,800 (2,35)	**
T-30%	4,133 (0,92)	ns	3,332 (0,44)	*	147,880 (1,91)	**
C.V.	40,408		50,114		2,605	

As médias foram obtidas com N = 3 e o desvio padrão é apresentado entre parênteses. * 5%; ** 1%; *** 0,1% de probabilidade e ns indica diferença não significativa quando comparadas com o tratamento água pela distribuição gama.

TABELA 3. Variação nos teores de pigmentos clorofilianos (Chla, b) e carotenoides (x+c) para o efeito das aplicações de tinturas de *Ligustrum lucidum* em feijoeiro inoculadas com *Colletotrichum lindemuthianum*, durante os tempos de avaliação.

Avaliações	Chla		Chlb		Total		a/b		x+c	
	mg/ml									
12hA1Apl	5,426(0,62)	***	1,416(0,16)	***	6,721(0,82)	***	3,753(0,14)	***	1,055(0,15)	***
12hD1Apl	4,336(0,83)	***	1,052(0,24)	ns	5,516(1,08)	**	4,222(0,19)	***	0,727(0,08)	*
48h DIn	3,320(0,40)		1,121(0,13)		4,444(0,52)		2,900(0,15)		0,722(0,05)	
7ddDIn	2,994(0,36)	ns	0,679(0,12)	*	3,692(0,45)	ns	4,188(0,44)	***	0,690(0,08)	ns
12hA2Apl	3,172(0,51)	ns	0,656(0,15)	**	3,745(0,60)	ns	4,790(0,48)	***	0,625(0,08)	ns
12hD2Apl	2,973(0,47)	ns	0,662(0,16)	**	3,636(0,62)	ns	4,576(0,60)	***	0,551(0,07)	***
C.V.	26,537		33,865		27,076		15,942		23,809	

As médias foram obtidas com N = 15 e o desvio padrão é apresentado entre parênteses. * 5%; ** 1%; *** 0,1% de probabilidade e ns indica diferença não significativa quando comparadas com a avaliação 48hDIn pela distribuição gama.

Fluorescência da clorofila a

Os resultados dos parâmetros de fluorescência da clorofila a nas plantas de feijoeiro submetidas ao efeito da aplicação da tintura hidroalcoólica de *L. lucidum* pré e pós-inoculação com *C. lindemuthianum*, demonstram diferenças significativas em vários níveis de probabilidade (0,1; 1 e 5%), entre os tratamentos contrastados com o controle negativo (água) (Tabela 4), bem como entre as avaliações (Tabela 5).

Observou-se diferenças significativas ($p < 0,05$) para a fluorescência inicial (F'_0) entre o tratamento com mancozebe e com a tintura a 20% em relação à água (Tabela 4), sendo que estes tratamentos elevaram a F'_0 .

A aplicação de mancozebe levou ao incremento de todos os parâmetros de fluorescência avaliados em relação à água, com exceção de F'_V/F'_M e ETR. Com a aplicação de 20% da tintura houve um incremento nos parâmetros, exceto no ETR, para o qual observaram-se diferenças apenas com

a tintura a 30%.

Observou-se que a aplicação do fungicida Mancozebe e da tintura de *L. lucidum* a 20% geraram incremento na eficiência fotoquímica do fotossistema II (Φ_{II}), porém, a aplicação de 30% da tintura resultou em diminuição deste parâmetro (Tabela 4).

O patógeno *C. lindemuthianum* é classificado no grupo V, como causador de doenças que interferem no processo fotossintético (McNew 1960). Segundo este autor, após a fase de germinação dos conídios (fase biotrófica) segue o crescimento micelial (fase necrotrófica), que se desenvolve entre as paredes celulares sem sintomas perceptíveis a olho nu. Nesta fase, o crescimento micelial provoca uma depressão abaixo da epiderme e, com o rompimento desta, surgem os acérvulos. Este processo ocorre entre 2 a 4 dias após a infecção (Zaumeyer e Thomas 1957).

Observou-se que a razão F'_V/F'_M (adaptada à luz), que indica o rendimento quântico máximo do

TABELA 4. Parâmetros de fluorescência calculados a partir dos tratamentos aplicados em folhas de feijoeiro adaptadas à luz e submetidas à aplicação da tintura hidroalcoólica de *Ligustrum lucidum*, inoculadas com *Colletotrichum lindemuthianum*.

Tratamentos	F'_0	Φ_{II}	F'_V/F'_M	F'_q/F'_v	ETR
	U.A.				
	$\mu\text{mol elétrons/m}^2\text{s}$				
Água	0,835(0,11)	1,614 (0,53)	0,580(0,10)	0,923(0,03)	69,816 (38,26)
Mancozebe	0,865(0,16)	** 1,687 (0,39)	* 0,584(0,10)	ns 0,953(0,05)	*** 74,833 (35,20)
T-10%	0,812(0,10)	ns 1,538 (0,44)	ns 0,575(0,11)	*** 0,953(0,06)	ns 66,258 (32,54)
T-20%	0,866(0,24)	*** 1,784 (0,37)	* 0,603(0,11)	** 0,935(0,07)	ns 64,541 (38,52)
T-30%	0,822(0,09)	ns 1,600 (0,60)	*** 0,573(0,12)	*** 0,973(0,08)	*** 70,495 (33,87)
C.V.	2,936	5,750	2,084	2,013	5,787

As médias foram obtidas com N = 24 e o desvio padrão é apresentado entre parênteses. * 5%; ** 1%; *** 0,1% de probabilidade e ns indica diferença não significativa quando comparadas com o tratamento água pela distribuição gama.

fotossistema II, sofreu incremento com a aplicação da tintura a 20%, e redução a 30%, quando comparadas à **água** (Tabela 4). Essa razão (F'_v/F'_m) normalmente decresce em plantas submetidas a algum tipo de estresse (Krause e Weis 1991). Os dados do fator de eficiência do PSII (F'_q/F'_v), que se referem à eficiência máxima operacional do PSII, diferiram significativamente (0,1% de probabilidade), entre os tratamentos, com incrementos em relação à **água**.

Foi possível observar que a aplicação da tintura de *L. lucidum* a 30% elevou a ETR (0,1% de significância, Tabela 4). Pequenas oscilações na ETR podem estar relacionadas a condições ambientais, visto que a capacidade fotossintética das plantas pode ser alterada por estresses bióticos ou abióticos, como temperatura, radiação, deficiência hídrica, salinidade, presença de insetos ou fungos, entre outros (Bown et al. 2002; Oliveira et al. 2002).

Nas avaliações realizadas 12h antes e depois da 1ª aplicação da tintura de *L. lucidum*, os valores de fluorescência inicial (F'_0) observados foram os mais baixos, diferindo significativamente ao nível de 0,1% de probabilidade, quando comparadas às avaliações realizadas 48h após a inoculação do patógeno (Tabela 5).

O aumento de F'_0 ocorreu 48 h após a inoculação, momento em que também se observou diminuição no teor de clorofila *a* e total em plantas de feijoeiro tratadas com extrato de *L. lucidum*. Aumentos de F'_0 podem ocorrer quando há danos no centro de reação do fotossistema II (Baker e Rosenqvist 2004).

A eficiência fotoquímica do fotossistema II

(Φ II) apresentou diferenças significativas no nível de 0,01%, na 1ª e 2ª avaliações, e a 0,5% nas demais, que apresentaram valores baixos após a inoculação do patógeno, com redução na eficiência fotoquímica das plantas. Observaram-se valores baixos na relação F'_v/F'_m , indicando que a planta estava passando por estresse durante as avaliações realizadas.

Björkman e Demming (1987) realizaram uma compilação de vários trabalhos para inúmeras espécies que apresentam ciclo C_3 , e descreveram que o valor médio da relação F'_v/F'_m era de 0,830 com folhas adaptadas ao escuro. Como as avaliações neste trabalho foram realizadas adaptadas a luz, era esperado que essa relação fosse mais baixa. Desta maneira, observamos valores de F'_v/F'_m em torno de 0,70 antes da inoculação de *C. lindemuthianum*. Porém, após este evento, os valores sofreram reduções significativas em plantas tratadas com tintura de *L. lucidum*, demonstrando menor eficiência do PSII, provavelmente devido ao ataque do patógeno (Tabela 5). Houve aumento de F'_v/F'_m somente na **última** avaliação, demonstrando possível recuperação da planta.

Foram observadas diferenças significativas ao nível de 0,1% para a razão F'_q/F'_v nas plantas submetidas à aplicação da tintura de *L. lucidum* em todas as avaliações (Tabela 5), sendo que na avaliação de 48hDIn foi observado o menor valor (0,889). Na avaliação de 12hA1Apl (0,976) observou-se aumento nos valores sendo que o mesmo ocorreu com os diferentes tratamentos que elevaram a F'_q/F'_v em relação a **água** (0,923) (Tabela 5).

TABELA 5. Parâmetros de fluorescência calculados a partir de avaliações realizadas em folhas de feijoeiro adaptadas à luz e submetidas à aplicação da tintura hidroalcoólica de *Ligustrum lucidum*, inoculadas com *Colletotrichum lindemuthianum*.

Avaliações	F'_0		Φ II		F'_v/F'_m		F'_q/F'_v		ETR	
	U.A.								$\mu\text{mol elétrons/m}^2\text{s}$	
12hA1Apl	0,738(0,03)	...	2,130(0,15)	...	0,697(0,02)	...	0,976(0,02)	...	45,633(13,87)	...
12hD1Apl	0,747(0,02)	..	2,292(0,09)	...	0,712(0,01)	...	0,970(0,02)	...	34,380(5,38)	...
48hDIn	1,073(0,25)		1,645(0,47)		0,470(0,11)		0,889(0,13)		114,873(34,67)	
7ddDIn	0,824(0,05)	..	1,569(0,45)	·	0,578(0,07)	...	0,960(0,04)	...	42,480(12,35)	...
12hA2Apl	0,832(0,08)	ns	1,521(0,40)	·	0,568(0,09)	..	0,937(0,08)	·	49,766(29,74)	...
12hD2Apl	0,820(0,07)	ns	1,352(0,33)	·	0,544(0,06)	·	0,962(0,06)	...	87,893(19,72)	ns
12hA3Apl	0,932(0,11)	ns	1,295(0,25)	ns	0,490(0,06)	ns	0,930(0,14)	...	108,420(14,16)	ns
12hD3Apl	0,753(0,06)	...	1,494(0,28)	ns	0,602(0,05)	...	0,955(0,05)	...	70,066(15,50)	..
C.V.	12,645		20,681		13,991		2,802		42,242	

As médias foram obtidas com N = 15 e o desvio padrão é apresentado entre parênteses. * 5%; ** 1%; *** 0,1% de probabilidade e ns indica diferença não significativa quando comparadas com a avaliação 48hDIn pela distribuição gama.

Neste trabalho observamos que a tendência das respostas de F'_v/F'_m foram semelhantes aos de F'_q/F'_v , sendo alterados 48h após a inoculação do patógeno, indicando que estes parâmetros são úteis em avaliações desta natureza. Isso porque mesmo não havendo sintomas visíveis do ataque do patógeno, estes parâmetros foram capazes de detectar o efeito do fungo nas folhas, permitindo que sejam tomadas ações de controle do fungo, antes mesmo que apareçam os primeiros sintomas.

A estimativa da taxa de transferência de elétrons (ETR) aumentou significativamente no nível de 0,1%, 48h após a inoculação do patógeno no experimento com aplicação de tintura de *L. lucidum* (Tabela 5). Os valores de ETR diminuíram 7 dias após inoculação. De maneira geral, a ETR se manteve durante as avaliações seguintes, voltando a elevar-se na última avaliação (12hD3Apl).

Castro et al. (2017) demonstrou perdas significativas na performance da fotossíntese nos parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* em *Euterpe oleracea* infectada por *Colletotrichum* sp. evidenciando que a antracnose causa danos no aparato fotossintético.

O patógeno inoculado atua em nível foliar e apesar da não observância de sintomas a olho nu, nas 48h após a inoculação, foi observado que os parâmetros de fluorescência se mostraram sensíveis na percepção de atuação do patógeno, mostrando reduções nos rendimentos. Desta forma, foi possível perceber que houve variação da maioria dos parâmetros de fluorescência, tanto em função da aplicação da tintura, como principalmente após a inoculação do patógeno.

CONCLUSÕES

As avaliações realizadas neste trabalho demonstram que o melhor tratamento contra a antracnose foi com mancozebe, onde obteve-se os resultados mais positivos nos componentes de produção, levando ao incremento dos mesmos. As aplicações de 10 e 20% da tintura refletiram em efeito negativo nos componentes de produção.

As reduções generalizadas observadas nos teores de pigmentos e carotenoides, bem como nos parâmetros de fluorescência da clorofila *a*, observadas 48 h após a inoculação com o patógeno, poderiam ser explicadas em função do ciclo de desenvolvimento do patógeno, que interfere no metabolismo foliar, levando a degradação destes pigmentos.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos de mestrado.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

- Baker NR, Rosenqvist E (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J Exp Bot* 55:1607-1621.
- Björkman O, Demming B (1987) Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77k among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170:489-504.
- Bown AW, Hall DE, Macgregor KB (2002) Insect footsteps on leaves stimulate the accumulation of 4aminobutyrate and can be visualized through increased chlorophyll fluorescence and superoxide production. *Plant Physiol* 129:1430-1434. <https://doi.org/10.1104/pp.006114>
- Campbell CL, Madden LV (1990) Introduction to plant disease epidemiology. 1 ed. New York: John Wiley 532p.
- Castro GLS, Silva Junior D, Bueno ACSO, Silva GB (2017) Anthracnose in açai palm leaves reduces leaf gas exchange and chlorophyll *a* fluorescence. *Trop Plant Pathol* 42:13-20.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) (1986) Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) Fernán FC, Gepts P, López M. p.34.
- Chiorato AF, Carbonell SAM, Bosetti F, Sasseron GR, Lopes RLT, Azevedo CVG (2015) Common bean genotypes for agronomic and market-related traits in VCU trials. *Sci Agric* 72:34-40. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2013-0172>
- Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) (2017) Acompanhamento de safra brasileira: boletim de grãos, setembro, 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_09_12_10_14_36_boletim_graos_setembro_2017.pdf> Acesso em: 19 set. 2017.
- Dalla Pria M, Silva OCDA (Org.) (2010) Cultura do feijão: doenças e controle. Ponta Grossa: Editora UEPG, p.452.
- Instituto Agrônomo Do Paraná (IAPAR) (2016) Cartas Climáticas do Paraná. Online. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=863>>. Acesso em: 15 jan. 2016.
- Jasper M (2010) Comparativo de diferentes grupos de fungicidas no controle de doenças do feijoeiro. 2010. Dissertação (Mestrado em Agronomia); Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, Brasil.
- Krause G, Weis E (1991) Chlorophyll fluorescence

- and photosynthesis: The basics. *Annu Rev Plant Physiol Plant Molec Biol* 42:313-349.
- Lage-Pinto F, Oliveira JG, Cunha M, Souza CMM, Rezende CE, Azevedo RA, Vitória AP (2008) Chlorophyll a fluorescence and ultrastructural changes in chloroplast of water hyacinth as indicators of environmental stress. *Environ Exp Bot* 64:307-64313. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000500025>
- Lichtenthaler HK, Wellburn AR (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochem Soc Trans* 11:591-592.
- Lobato AKS, Gonçalves-Vidigal MC, Vidigal Filho OS, Andrade CAB, Kvitschal MV, Bonato CM (2010) Relationships between leaf pigments and photosynthesis in common bean plants infected by anthracnose. *N Z J Crop Hort Sci* 8:1:29-37. <https://doi.org/10.1080/01140671003619308>
- Meyer S, Saccardy K, Rizza F, Genty B (2001) Inhibition of photosynthesis by *Colletotrichum lindemuthianum* in bean leaves determined by chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Cell Environ* 24:947-955. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00737.x>
- Oliveira JG, Alves PLCA, Magalhães AC (2002) The effect of chilling on the photosynthetic activity in coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. The protective action of chloroplast pigments. *Braz J Plant Physiol* 14:95-104. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202002000200003>
- Pang Z, Zhi-Yan Z, Wang W, Ma Y, Feng-Ju N, Zhang X, Han C (2015) The advances in research on the pharmacological effects of fructus *Ligustri lucidi*. *Bio Med Res Int* 2015:5 Article ID 281873. <https://doi.org/10.1155/2015/281873>
- Porra RJ (2002) The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. *Photos Res* 73:149-156.
- R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Talamini V, Stadnik MJ (2004) Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: Stadnik, M. J.; Talamini, V. (Eds). Manejo ecológico de doenças de plantas. Florianópolis: CCA/UFSC 293p.
- Walz H (2015) PAM-2500. Disponível em: http://www.walz.com/products/chl_p700/pam-2500/introduction.html Acesso em: 29 set. 2015.
- Wrege MS, Steinmetz S, Reisser Junior C, Almeida IR (2012) Atlas climático da Região Sul do Brasil: Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. 2 ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 333p.
- Wu XL, Bao WK (2011) Effect of water deficit on growth and photosynthetic characteristics of 13 winter wheat. *Afr J Biotechnol* 10:11861-11869.
- Zaumeyer WJ, Thomas HRA (1957) Monographic study of bean diseases and methods for their control. *Agr Teach Bull* n.868, U.S. Dept. of Agriculture p.255.