

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOA
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

LUAN HENRIQUE DA SILVA FERRO

HISTOPATOLOGIA E HISTOQUÍMICA DO PROCESSO DE INFECÇÃO DE
Colletotrichum truncatum EM *Phaseolus lunatus* L.

RIO LARGO
2026

LUAN HENRIQUE DA SILVA FERRO

**HISTOPATOLOGIA E HISTOQUÍMICA DO PROCESSO DE INFECÇÃO DE
Colletotrichum truncatum EM *Phaseolus lunatus* L.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, para obtenção do título de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Gildemberg Amorim Leal Junior

Co-orientadora: Profa. Dra. Graziela Cury Guapo

RIO LARGO
2026

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

F395h Ferro, Luan Henrique da Silva.

Histopatologia e histoquímica do processo de infecção de *Colletotrichum truncatum* em *Phaseolus lunatus* L. / Luan Henrique da Silva Ferro. – 2026.

55f.: il.

Orientador(a): Gildemberg Amorim Leal Junior.

Coorientador(a): Graziela Cury Guapo.

Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) – Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2026.

Inclui bibliografia

1. Infecção fúngica. 2. Histologia vegetal. 3. Defesa vegetal. 4. Melhoramento genético.
I. Título.

CDU: 581.82: 631.52

Folha de Aprovação

LUAN HENRIQUE DA SILVA FERRO

HISTOPATOLOGIA E HISTOQUÍMICA DO PROCESSO DE INFECÇÃO DE *Colletotrichum truncatum* EM *Phaseolus lunatus* L.

Dissertação submetida à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, e aprovada em 26 de fevereiro de 2026.

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **GILDEMBERG AMORIM LEAL JUNIOR**
Data: 08/05/2026 12:35:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador: Prof. Dr. Gildemberg Amorim Leal Junior
(Universidade Federal de Alagoas)

Documento assinado digitalmente
 **MARIA DE FATIMA SILVA MUNIZ**
Data: 06/05/2026 14:44:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Examinador Interno: Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Silva Muniz
(Universidade Federal de Alagoas)

Documento assinado digitalmente
 **JOAO PAULO RODRIGUES MARQUES**
Data: 08/05/2026 13:47:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Examinador Externo: Prof. Dr. João Paulo R. Marques
(Universidade de São Paulo)

À minha mãe:
Josiete da Sila Ferro que sempre acreditou na educação
como caminho para um futuro melhor e que, com
incentivo e apoio, tornou possível esta realização.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof.^o Dr.^o Gildemberg Amorim Leal Junior, pela confiança, parceria, experiências proporcionadas e conhecimentos partilhados nesses dois anos de convivência;

A minha co-orientadora Prof.^a Dr.^a Graziela Cury Guapo pelos vários anos de confiança, parceria e ensinamentos;

A Prof.^a Dr.^a Ana Prata, pelo incentivo que me fez tomar a decisão de me inscrever na seleção para o mestrado;

Aos meus amigos Dayse Lins e Jerferson Silva, pelas horas de sono perdidas nas madrugadas no laboratório durante os experimentos. A dedicação, o apoio e a parceria de vocês foram imprescindíveis para a realização deste trabalho!

Às minhas amigas Claudjane Amorim (Cacau), Gabriela Andrade (Gab) e Ester Costa, as primeiras pessoas que tive contato ao entrar no mestrado, por todos os conhecimentos, todas as risadas e momentos compartilhados;

Às minhas amigas Iara Luna e Géssica Trindade por todos os ensinamentos, experiências e momentos compartilhados;

Aos meus colegas e amigos da Clínica fitossanitária que impactaram positivamente minha trajetória, em especial Ana Paula, Sheila Carvalho, Rafaela Araújo e José Carlito, por toda a ajuda e conhecimentos partilhados.

E por fim a todas as pessoas que tive o prazer de compartilhar vivências durante o mestrado e impactaram direta ou indiretamente esse processo.

RESUMO

Os fungos do gênero *Colletotrichum* exibem elevada plasticidade infecciosa, uma vez que seu comportamento patogênico depende do hospedeiro infectado. Estudos histopatológicos auxiliam na compreensão detalhada dos processos patogênicos de fitopatógenos, sendo fundamentais para o entendimento dos mecanismos de resistência da planta. Nesse sentido, embora a resistência à antracnose em *Phaseolus lunatus*, causada por *Colletotrichum truncatum*, seja conhecida, análises histopatológicas são necessárias para caracterizar a forma como o patógeno coloniza os tecidos do hospedeiro. Assim, o estudo teve como objetivo caracterizar os eventos histopatológicos e histoquímicos associados à infecção de *C. truncatum* em folhas de *P. lunatus*, utilizando dois isolados contrastantes quanto à agressividade (ICT12 e ICT16), inoculados em três variedades do hospedeiro (PLBP4, G65 e OVIC), visando compreender os mecanismos estruturais e bioquímicos que modulam essa interação até 148 horas após a inoculação (hai). Para isso, folhas completamente expandidas das três variedades foram coletadas, desinfestadas e inoculadas com suspensões de esporos de ambos os isolados ajustadas à concentração de 1×10^5 esporos/mL. A severidade da doença foi avaliada por análise de imagens digitais aos 10 dias após a inoculação, com dados submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). A formação de estruturas fúngicas foi acompanhada por teste de impressão utilizando esmalte incolor. Para as análises histológicas, os tecidos das áreas inoculadas foram incluídos em historesina, seccionados em micrótomo e corados com azul de algodão e safranina, enquanto as análises histoquímicas foram realizadas em material fresco para detecção de compostos fenólicos, lipídios e carboidratos. O ensaio revelou que embora todas as variedades tenham desenvolvido lesões, a severidade variou entre isolados, sendo o isolado ICT12 mais agressivo na OVIC e o ICT16 nas variedades G65 e PLBP4, sendo esta última mais eficiente em restringir a infecção, especialmente frente ao ICT12. Os testes histoquímicos evidenciaram acúmulo mais precoce de compostos fenólicos em OVIC (4 hai) e PLBP4 (6 hai), com redução gradual ao longo do período de avaliação, enquanto na variedade G65 esses compostos foram detectados a partir de 9 hai e se mantiveram durante todo o processo infeccioso. O isolado ICT16 apresentou comportamento predominantemente necrotrófico, caracterizado por colonização subcuticular inicial e subsequente degradação dos tecidos epidérmicos e do mesófilo, com formação de lesões necróticas e diferenciação de acérvulos. Em contraste, o isolado ICT12 exibiu padrão hemibiotrófico, com penetração inicial nas células epidérmicas sem lise imediata, indicando fase biotrófica transitória, seguida de transição para a fase necrotrófica, marcada pela degradação das células epidérmicas e posterior comprometimento do mesófilo. O estudo revela que, dentro da mesma espécie, diferentes estratégias de infecção podem ser adotadas para colonizar um mesmo hospedeiro, evidenciando a complexidade da interação patógeno-planta e os desafios no desenvolvimento de variedades resistentes de *P. lunatus* a *C. truncatum*.

Palavras-chave: Infecção fúngica, Histologia vegetal, Defesa vegetal, Melhoramento genético.

ABSTRACT

Fungi of the genus *Colletotrichum* exhibit high infectious plasticity, as their pathogenic behavior depends on the infected host. Histopathological studies aid in the detailed understanding of the pathogenic processes of plant pathogens and are fundamental to understanding plant resistance mechanisms. In this regard, although resistance to anthracnose in *Phaseolus lunatus*, caused by *Colletotrichum truncatum*, is known, histopathological analyses are necessary to characterize how the pathogen colonizes host tissues. Thus, the study aimed to characterize the histopathological and histochemical events associated with *C. truncatum* infection in *P. lunatus* leaves, using two isolates differing in aggressiveness (ICT12 and ICT16), inoculated into three host varieties (PLBP4, G65, and OVIC), to understand the structural and biochemical mechanisms that modulate this interaction up to 148 hours after inoculation (hai). For this purpose, fully expanded leaves from the three varieties were collected, disinfected, and inoculated with spore suspensions of both isolates adjusted to a concentration of 1×10^5 spores/mL. Disease severity was assessed by digital image analysis 10 days after inoculation, with data subjected to analysis of variance (ANOVA) and comparison of means using the Scott–Knott test ($p \leq 0.05$). The formation of fungal structures was monitored using a stamp test with colorless enamel. For histological analyses, tissues from the inoculated areas were embedded in historesin, sectioned on a microtome, and stained with cotton blue and safranin, while histochemical analyses were performed on fresh material to detect phenolic compounds, lipids, and carbohydrates. The test revealed that although all varieties developed lesions, the severity varied among isolates, with isolate ICT12 being the most virulent on OVIC and ICT16 on varieties G65 and PLBP4, the latter being more effective at limiting infection, especially against ICT12. Histochemical tests showed earlier accumulation of phenolic compounds in the OVIC and PLBP4 varieties, detected from 4 and 6 hai, respectively, with a gradual reduction throughout the evaluation period, while in the G65 variety, these compounds began to be detected from 9 hai and remained throughout the infectious process. The ICT16 isolate exhibited predominantly necrotrophic behavior, characterized by initial subcuticular colonization, with subsequent degradation of epidermal and mesophyll tissues, with the formation of necrotic lesions and differentiation of acervuli. In contrast, the ICT12 isolate exhibited a hemibiotrophic pattern, with initial penetration into epidermal cells without immediate lysis, indicating a transient biotrophic phase, followed by a transition to the necrotrophic phase, initially marked by degradation of epidermal cells and subsequent compromise of the mesophyll. The study reveals that within the same species, it is possible to observe different lifestyles for colonizing the same host species. The findings highlight the high complexity of disease development and host response. This makes the development of *P. lunatus* varieties resistant to *C. truncatum* challenging.

Keywords: Fungal infection, Plant histology, Plant defense, Genetic improvement

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Inoculação e amostragem em folhas de *Phaseolus lunatus*: (A) Pontos de inoculação previamente demarcados com caneta à prova d'água. (B) áreas de coleta de tecidos.....30
- Figura 2.** Sintomas iniciais em tecidos foliares inoculados com isolados de *Colletotrichum*: (A) isolado ICT12, com leve clorose na área de inoculação; (B) isolado ICT16, com manchas necróticas circundadas por halo clorótico 32
- Figura 3.** Aspecto das lesões de antracnose em folhas de *Phaseolus lunatus* inoculadas com *Colletotrichum truncatum*, aos 10 dias após a inoculação. (A–C) Isolado ICT12 nas variedades OVIC, G65 e PLBP4, respectivamente; (D–F) Isolado ICT16 nas variedades OVIC, G65 e PLBP4, respectivamente..... 33
- Figura 4.** Valores médios de severidade das três variedades de feijão-fava 10 dias após a inoculação com ambos os isolados de *Colletotrichum truncatum*. (A) variedade PLBP4; (B) variedade G65; (C) variedade OVIC. 34
- Figura 5.** Germinação de conídios e formação de apressórios do isolado ICT12 em folhas das variedades PLBP4 (A e D); G65 (B e E) e OVIC (C e F); (ap) apressório; (tg) tudo germinativo; barra: 6 µm..... 35
- Figura 6.** Micrografias ópticas das folhas da Variedade OVIC inoculadas com o isolado ICT12: (A e B) hifas intracelulares epidérmicas com 24 hai (ponta de seta); (C) degradação da epiderme 36
- Figura 7.** Micrografias ópticas das folhas da Variedade G65 inoculadas com o isolado ICT12: (A) hifas intracelulares epidérmicas com 30 hai (ponta de seta); (B) hifas colonizando o mesofilo (ponta de seta) e degradação da epiderme (asterisco preto) com 48 hai; (C) hifas intercelulares com 72 hai (seta branca); (D e E) presença de amplos espaços intercelulares s (seta preta), cloroplasto agrupado (asterisco branco), observa-se a área de transição da infecção com 148 hai; (c) cutícula; (ead) epiderme adaxial; (eab) epiderme abaxial; (pp) parênquima paliçádico; (pl) parênquima lacunoso (x) xilema; barra: 100 µm. 23
- Figura 8.** Micrografias ópticas das folhas da Variedade PLBP4 inoculadas com o isolado ICT12: (A-C) hifas colonizando as células epidérmicas (ponta de seta) observadas a parti

96 hai; (D) hifas intercelulares (seta branca); (c) cutícula; (ead) epiderme adaxial; (pp) parênquima paliçádico com 120 hai; barra: 100 µm. 38

Figura 9. Detecção histoquímica de compostos fenólicos nas três variedades de *Phaseolus lunatus* inoculadas com o isolado ICT12 de *Colletotrichum truncatum*: (A e B) variedade OVIC, observou-se compostos fenólicos com 6 hai, seguida por redução progressiva; (C e D) variedade G65, compostos fenólicos foram detectados a partir de 9 hai; (E e F) variedade PLBP4, compostos fenólicos a partir de 4 hai, com diminuição gradual nas avaliações subsequentes 39

Figura 10. Germinação de conídios e formação de apressórios do isolado ICT16 em folhas das variedades PLBP4: Variedades OVIC (A e D); variedade G65 (B e E) e variedade PLBP4 (C e F); (ap) opressório; (tg) tudo germinativo; barra 40

Figura 11. Micrografias ópticas das folhas da Variedade OVIC inoculadas com o isolado ICT16: (A) hifas subcuticulares intramurais (ponta de seta), e massas de cloroplastos (asterisco branco) observados a parti de 24 hai; (B) massa compacta de hifas (asterisco preto) que deu origem aos acérvulos (ac); (C) presença de amplos espaços intercelulares (seta preta) e acérvulos observados a partir de 120 hai; (c) cutícula; (ead) epiderme adaxial; (pp) parênquima paliçádico; (pp) parênquima lacunoso 41

Figura 12. Micrografias ópticas das folhas da Variedade G65 inoculadas com o isolado ICT16: (A) hifas subcuticulares intramurais (ponta de seta) observadas a parti de 24 hai; (B) degradação das células epidérmica (asterisco preto), presença de amplos espaços intercelulares (seta preta), cloroplasto agrupado nos tecidos degradados (asterisco branco); (C) espessura da parede dos elementos de vaso em coletas anteriores a 72 hai (D) espessamento dos elementos de vaso (seta branca) com 72 hai; (E) formação de acérvulos (ac) 96 hai; (c) cutícula; (ead) epiderme adaxial; (pp) parênquima paliçádico; (x) xilema barra 42

Figura 13. Micrografias ópticas das folhas da Variedade PLBP4 inoculadas com o isolado ICT16: (A e B) hifas subcuticulares intramurais (ponta de seta) observadas a parti de 18 hai; (C e D) degradação das células epidérmica (asterisco preto), presença de amplos espaços intercelulares (seta preta) indicando degradação das paredes celulares e condensação dos cloroplastos em massas (asterisco branco) observado 96 hai; (c) cutícula; (ead) epiderme adaxial; (pp) parênquima paliçádico; (pl) parênquima lacunoso; barra 43

Figura 14. Detecção histoquímica de compostos fenólicos nas três variedades de *Phaseolus lunatus* inoculadas com o isolado ICT12 de *Colletotrichum truncatum*: (A e B) variedade OVIC, observou-se compostos fenólicos com 6 hai, seguida por redução progressiva; (C e D) variedade G65, compostos fenólicos foram detectados a partir de 9 hai; (E e F) variedade PLBP4, compostos fenólicos a partir de 4 hai, com diminuição gradual nas avaliações subsequentes 44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1. Interação Planta-Patógeno: aspectos histopatológicos da infecção por <i>Colletotrichum</i> spp.	15
2.2. Histoquímica da interação Planta-Patógeno	19
2.3. Família Fabaceae	20
2.4. Gênero <i>Phaseolus</i> spp.....	21
2.5. <i>Phaseolus lunatus</i> L.: Aspectos gerais da espécie e sua importância na agricultura de subsistência e diversidade genética	21
2.6. Importância econômica do feijão-fava	23
2.7. Antracnose	24
2.8. Antracnose no feijão-fava: agente causal, sintomatologia e manejo	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1. Material vegetal	28
3.2. Inoculação.....	28
3.3. Severidade da antracnose em <i>P. lunatus</i>	29
3.4. Teste de impressão	29
3.5. Análises histológicas.....	29
3.6. Análises histoquímicas.....	30
4. RESULTADOS	32
4.1. Severidade e sintomatologia da antracnose causada por <i>C. truncatum</i> em <i>P. lunatus</i>	32
4.2. Histopatologia dos tecidos de <i>P. lunatus</i> inoculados com isolado ICT12 de <i>C. truncatum</i>	34
4.3. Histopatologia dos tecidos de <i>P. lunatus</i> inoculados com isolado ICT16 de <i>C. truncatum</i>	40
5. DISCUSSÃO	45
6. CONCLUSÃO	50
7. REFERÊNCIAS	51

1. INTRODUÇÃO

Estudos histopatológicos vão além da simples descrição de alterações nos tecidos vegetais frente a infecção de um patógeno, eles permitem a identificação das estruturas e localização de fitopatógenos no interior do hospedeiro, assim como permite a identificação estratégias de defesa da planta infectada. Apesar dos avanços no entendimento dos mecanismos de resistência das plantas, as estratégias de defesa do hospedeiro ainda são pouco exploradas sob a perspectiva histológica. Nesse contexto, a histopatologia fornece informações essenciais para a compreensão dos processos de penetração, colonização e estabelecimento dos patógenos nos tecidos vegetais, quanto a resistência vegetal, ela pode estar associada a caracteres estruturais e bioquímicos, constitutivos ou induzidos, que se manifestam ao longo da interação planta-patógeno (Marques e Soares, 2021).

De modo geral, os fungos constituem um dos grupos mais importantes de fitopatógenos, sendo responsáveis por uma ampla gama de doenças em plantas cultivadas (Amorin; Rezende e Bergamin Filho, 2018). Entre essas doenças, a antracnose destaca-se por sua ampla distribuição e pelo impacto negativo em diversas culturas de importância econômica. Embora extensivamente estudada em sistemas agrícolas de maior interesse agrônomo, a antracnose também afeta culturas de subsistência, como o *Phaseolus lunatus* L., (feijão-fava), provocando reduções expressivas na produtividade e na qualidade das vagens (Gomes et al., 2022). Os danos associados à antracnose resultam não apenas em perdas econômicas, mas também em impactos sociais relevantes, especialmente em regiões dependentes da agricultura familiar. Apesar disso, a doença permanece pouco investigada nesse tipo de cultura.

Phaseolus lunatus L., conhecido popularmente como feijão-fava ou feijão-de-lima, apresenta populações silvestres e cultivadas, sendo historicamente utilizado por povos indígenas das Américas (Martínez-Castillo et al., 2008). No Brasil, embora seja menos explorado que *Phaseolus vulgaris* L. (feijão-comum), o feijão-fava destaca-se por sua ampla capacidade de adaptação edafoclimática, assumindo grande relevância agrícola no Nordeste brasileiro onde a cultura possui expressiva importância econômica, social e cultural, especialmente devido à sua rusticidade e tolerância a condições de temperaturas elevadas, o que possibilita a extensão do período de cultivo mesmo durante a estação seca. (Guimarães et al., 2007)

A região Nordeste concentra aproximadamente 99% da produção nacional de feijão-fava. No estado de Alagoas, a produção é estimada em cerca de 488 toneladas, cultivadas em uma área de

528 hectares, representando aproximadamente 4% da produção nacional (IBGE, 2022). Apesar da ampla adaptação da cultura às condições climáticas regionais, a ocorrência de doenças constitui um dos principais fatores limitantes à produção, comprometendo a produtividade e a sustentabilidade do cultivo (Silva et al., 2014; Sousa et al., 2018).

No feijão-fava, o principal agente etiológico da antracnose é o fungo *Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus & Moore. Os sintomas característicos da doença incluem manchas avermelhadas na face adaxial das folhas, geralmente distribuídas ao longo das nervuras, além do comprometimento de pecíolos, caules jovens e vagens. Nas vagens, observam-se lesões grandes, deprimidas e de coloração avermelhada, frequentemente associadas à formação de numerosos acérvulos (Cavalcante et al., 2019).

O processo inicial de infecção das espécies do gênero *Colletotrichum* apresenta elevada similaridade entre os diferentes hospedeiros. Os conídios aderem à superfície epidérmica, germinam e formam tubos germinativos que se diferenciam em apressórios, a partir dos quais se originam hifas de penetração (peg), capazes de atravessar a cutícula e a parede celular do hospedeiro (Diéguez-Urbeondo et al., 2005). Após a penetração, as espécies de *Colletotrichum* podem apresentar diferentes estratégias de colonização, variando entre necrotrófico, hemibiotrófico, latente ou quiescente e endofítico, sendo a hemibiotrofia o modo de infecção mais frequentemente relatado para o gênero (De Silva et al., 2017).

Apesar da importância da antracnose no feijão-fava, os danos causados por *C. truncatum* ainda não foram descritos sob a perspectiva histopatológica. A compreensão do comportamento dos tecidos vegetais do hospedeiro frente a presença do patógeno, torna este trabalho de suma importância para entendimento do patossistema da antracnose no feijão-fava assim como a resistência do hospedeiro.

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo descrever as alterações anatômicas e bioquímicas apresentadas pelas folhas do feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) durante o processo de infecção causado por *C. truncatum*, com foco no modo de penetração e na colonização do patógeno, visando compreender as possíveis causas que levam à restrição do crescimento das lesões em algumas plantas, buscando entender os mecanismos responsáveis pela suscetibilidade ou resistência do hospedeiro à infecção.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Interação Planta-Patógeno e aspectos histopatológicos da infecção por *Colletotrichum* spp.

Embora à primeira vista possam parecer organismos passivos frente à ação de microrganismos patogênicos, as plantas dispõem de um conjunto complexo e altamente coordenado de mecanismos de defesa que lhes permitem reconhecer, responder e, em muitos casos, limitar o avanço de patógenos. As interações planta-patógeno envolvem uma sucessão de eventos que se iniciam com o reconhecimento do invasor pelo hospedeiro e culminam na ativação de respostas defensivas específicas. De maneira geral, esses mecanismos podem ser classificados em duas grandes categorias: defesas estruturais ou físicas, que atuam como barreiras pré-formadas ou induzidas, e defesas bioquímicas, relacionadas à produção e ao acúmulo de metabólitos com ação antimicrobiana. A ativação dessas respostas ocorre por meio de sinais sucessivos e integrados, que refletem a complexidade do sistema de defesa vegetal frente à diversidade de estratégias empregadas pelos patógenos (Fernandes et al., 2009).

Dentre os diferentes grupos de fitopatógenos, os fungos se destacam como uma das classes mais importantes, tanto pela diversidade de espécies quanto pela ampla gama de doenças que causam em plantas cultivadas. Milhares de espécies fúngicas estão associadas a doenças de importância agrícola, afetando culturas em diferentes estágios de desenvolvimento e em distintas condições ambientais. De modo geral, plantas infectadas por fungos apresentam uma variedade de sintomas visuais e estruturais, entre os quais se destacam manchas foliares necróticas ou descoloridas, murcha associada ao bloqueio dos vasos condutores, podridão de tecidos, crescimento de micélio visível na superfície vegetal como no caso dos oídios e a formação de pequenas pústulas pulverulentas, características das ferrugens (Amorin; Rezende e Bergamin Filho, 2018).

Essas manifestações sintomatológicas estão diretamente relacionadas a perdas de produtividade em diversas culturas agrícolas, resultando em prejuízos econômicos significativos. Além do impacto direto sobre o rendimento, o processo de penetração, colonização e estabelecimento dos fungos nos tecidos vegetais promove alterações estruturais e fisiológicas profundas, que refletem etapas específicas do monociclo da doença. Assim, o estudo detalhado desses processos permite compreender não apenas a expressão dos sintomas, mas também os mecanismos subjacentes à infecção e à progressão da doença no hospedeiro (Marques, Soares e Appezzato-da-Glória, 2013).

Entre as doenças fúngicas de maior relevância econômica, a antracnose ocupa posição de destaque, tanto em condições de pré quanto de pós-colheita. Essa doença é causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, um grupo de fungos amplamente distribuído e caracterizado por uma elevada diversidade de hospedeiros. A ampla disseminação dessas espécies, aliada à sua capacidade de infectar diferentes tecidos vegetais, resulta em severas perdas de produtividade em diversas culturas agrícolas (Kimati et al., 2005).

O processo infeccioso de *Colletotrichum* spp. inicia-se, de modo geral, com a deposição e aderência dos conídios à superfície epidérmica do hospedeiro. Em condições favoráveis, esses conídios germinam, originando tubos germinativos que, posteriormente, se diferenciam em apressórios. Essas estruturas especializadas desempenham papel central no processo de infecção, pois a partir delas se desenvolvem as hifas de penetração (peg), capazes de atravessar a cutícula e a parede celular do hospedeiro por meio da combinação de força mecânica e ação enzimática (Diéguez-Uribeondo et al., 2005). Estudos histopatológicos têm sido fundamentais para evidenciar as particularidades desse processo, revelando diferenças e similaridades na colonização tecidual entre espécies de *Colletotrichum* spp. e seus respectivos hospedeiros.

Na macieira (*Malus domestica*), por exemplo, a infecção por *C. fructicola* é caracterizada inicialmente pela liberação de enzimas capazes de degradar a cutícula, tornando-a progressivamente mais delgada. Esse afinamento representa o primeiro indicativo da penetração do patógeno. Em seguida, forma-se um pino de penetração a partir do apressório, que atravessa completamente a cutícula e dá origem a uma vesícula de infecção intramural subcuticular. Essa estrutura diferencia-se em hifas primárias que penetram as células epidérmicas e avançam em direção ao parênquima paliçádico, onde o patógeno permanece em um estágio de desenvolvimento biotrófico. A transição para a fase necrotrófica é marcada pela produção de hifas secundárias, associadas à degradação celular, especialmente nas regiões adjacentes a essas hifas (Shang et al., 2020).

Em caules e pecíolos de morangueiro (*Fragaria ananassa*) acometidos por antracnose causada por *C. acutatum* e *C. fragariae*, observou-se que, apesar de se tratarem de espécies distintas, o processo infeccioso apresenta elevada similaridade. Os primeiros sinais de dano celular incluem a distorção das paredes celulares e o desprendimento da membrana plasmática. Com o avanço da infecção, as hifas tornam-se mais abundantes nas células corticais, enquanto a colonização da cutícula, epiderme e subepiderme ocorre inicialmente de forma apoplástica,

progredindo posteriormente para células mortas. Em estágios mais avançados, a progressão da doença resulta em deformações acentuadas e ruptura das paredes das células corticais, enquanto as paredes das células epidérmicas e subepidérmicas permanecem estruturalmente íntegras, mesmo após a penetração fúngica (Curry et al., 2002).

Na antracnose causada por *C. sansevieriae* em *Sansevieria trifasciata* (espada-de-São-jorge), os estudos histopatológicos indicaram que, nos estágios iniciais da infecção, a colonização dos tecidos foliares ocorre predominantemente a partir de lesões previamente existentes. A expansão do patógeno dá-se pelo mesófilo, tanto de forma intracelular quanto intercelular, sem evidências consistentes de penetração direta pela superfície foliar íntegra. Em alguns casos, entretanto, foi possível observar hifas penetrando no hospedeiro por meio das aberturas estomáticas. A colonização concentra-se nas células do parênquima e no espaço subcuticular, onde ocorre intensa proliferação fúngica, seguida pela diferenciação de acérvulos. Em estágios avançados, o acúmulo dessas estruturas promove a ruptura das células epidérmicas e parenquimáticas, e os acérvulos maduros rompem a cutícula, possibilitando a liberação dos conídios (Kee, Zakaria e Mohd, 2020).

Em folhas de mangueira (*Mangifera indica*) infectadas por *C. gloeosporioides*, tanto em condições naturais quanto após inoculação in vitro, os estudos histopatológicos revelaram padrões semelhantes de colonização e degradação tecidual. Em tecidos naturalmente infectados, observaram-se plasmólise, desorganização estrutural e escurecimento das células parenquimáticas próximas aos feixes vasculares, frequentemente preenchidas por micélio fúngico, com posterior disseminação para tecidos adjacentes e elementos do xilema. De forma semelhante, nos tecidos inoculados artificialmente, a infecção iniciou-se de maneira subcuticular, seguida por colonização inter e intracelular do mesófilo, resultando em colapso celular progressivo, espessamento das paredes epidérmicas e necrose generalizada (Pandey et al., 2012).

Na oliveira (*Olea europaea*) a antracnose causada por *C. acutatum* e *C. gloeosporioides* apresenta particularidades relacionadas ao estágio de desenvolvimento do hospedeiro. Embora a germinação dos conídios e a formação de apressórios ocorram em folhas, ramos e frutos, o desenvolvimento efetivo da infecção e dos sintomas é restrito aos frutos. Nos frutos imaturos, a infecção permanece limitada à penetração inicial, sem colonização subsequente ou desenvolvimento de sintomas, caracterizando um estado quiescente. Em frutos em início de maturação e maduros, ocorre colonização subcuticular e intra e intercelular dos tecidos epidérmicos e do mesocarpo, com formação de hifas multilobadas, necrose celular progressiva e

intensa colonização de tecidos mortos, culminando na formação de acérvulos que rompem a cutícula. Apesar de se tratarem de espécies distintas, o processo infeccioso mostrou-se semelhante, sendo o estágio de maturação do hospedeiro o principal fator determinante para o desenvolvimento da doença (Talhinhas et al., 2011).

Na goiabeira (*Psidium guajava*), *C. gloeosporioides* causa lesões ao penetrar diretamente a cutícula do fruto por meio das hifas de penetração originadas na base dos apressórios. Essas estruturas secretam material adesivo, o que favorece sua fixação à superfície do hospedeiro. As hifas de penetração permanecem restritas à cutícula, não sendo observados danos às células epidérmicas. Além disso, verificou-se maior taxa de germinação dos conídios e formação de apressórios em temperaturas entre 20 e 25 °C (Moraes, Escanferla e Massola, 2014).

Na podridão floral dos citros (*Citrus sinensis*), causada por *C. acutatum*, os conídios originam tubos germinativos que formam apressórios depositados nas paredes anticlinais e periclinais das células epidérmicas. A penetração ocorre predominantemente pelo espaço intercelular, e, uma vez nos tecidos, as hifas apresentam crescimento subcuticular e intramural. Em alguns casos, a penetração pode ocorrer por meio do ostíolo dos estômatos ou diretamente nas células epidérmicas (Marques et al., 2013).

Diferenças nas estratégias de colonização também foram observadas na antracnose causada por *C. truncatum* em diferentes hospedeiros. No mamão (*Carica papaya*), o patógeno forma apressórios que penetram diretamente a parede celular por ação mecânica e enzimática, dando origem a hifas intramurais. Logo após a infecção, inicia-se o processo necrótico, com a presença de hifas intracelulares associadas à degradação tecidual. Na ervilha (*Pisum sativum*), embora os conídios germinem mais rapidamente, o processo infeccioso é mais lento. Nesse caso, as hifas primárias permanecem invaginadas no lúmen celular durante um estágio biotrófico prolongado, sem ocorrência imediata de lise celular. A transição para a fase necrotrófica é marcada pela liberação de hifas secundárias, responsáveis pelo dano aos tecidos do hospedeiro (Rojo-Báez et al., 2016).

De modo geral, os estudos histopatológicos permitem a visualização detalhada dos aspectos estruturais dos tecidos infectados e a localização precisa dos fitopatógenos, fornecendo informações essenciais sobre os processos de penetração, colonização e degradação tecidual. Associadas às análises histoquímicas, essas abordagens são fundamentais para a compreensão das

respostas do hospedeiro frente ao agente patogênico, bem como das estratégias utilizadas pelo patógeno para superar as barreiras defensivas da planta (Marques e Soares, 2021).

2.2. Histoquímica da interação Planta-Patógeno

A histoquímica é uma técnica que utiliza reagentes químico-histológicos previamente estabelecidos para a identificação de compostos do metabolismo primário e secundário presentes nos tecidos vegetais. Esses métodos baseiam-se em reações cromáticas específicas, permitindo a detecção e a localização de substâncias em membranas celulares e conteúdos intracelulares. O reconhecimento dessas alterações histoquímicas possibilita uma melhor compreensão dos mecanismos de resistência das plantas ao ataque de patógenos, contribuindo para estratégias de manejo mais sustentáveis e economicamente viáveis, com reflexos positivos na produtividade e na qualidade dos produtos agrícolas (Figueiredo et al., 2007).

De modo geral, na interação planta-patógeno, a planta pode ser classificada como não hospedeira, quando apresenta imunidade ao patógeno, ou como hospedeira, sendo então suscetível à infecção. Sob a perspectiva do patógeno, este pode ser considerado avirulento quando incapaz de causar doença, ou virulento, quando possui a capacidade de colonizar o hospedeiro e induzir sintomas. As respostas defensivas ativadas pela planta frente à infecção são tradicionalmente agrupadas em mecanismos estruturais (ou físicos) e mecanismos bioquímicos (Glazebrook, 2005; Fernandes et al., 2009).

As respostas de defesa das plantas ao ataque de patógenos estão intimamente relacionadas à percepção de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). O reconhecimento dessas moléculas pelo hospedeiro desencadeia uma cascata de eventos celulares e bioquímicos, incluindo alterações estruturais, ativação de vias metabólicas e síntese de proteínas de defesa. Essas proteínas podem atuar degradando a parede celular de fungos, promovendo a biossíntese de compostos antimicrobianos ou reforçando as paredes celulares da planta, dificultando o avanço do patógeno. Paralelamente, ocorre a ativação da transcrição de genes de alerta associados ao aumento da atividade enzimática e à produção de metabólitos envolvidos na contenção ou no retardo da infecção (Barbieri e Carvalho, 2001; Silva et al., 2008).

Do ponto de vista bioquímico, um dos mecanismos de defesa vegetal mais relevantes é a produção e o acúmulo de metabólitos secundários, cuja síntese é intensificada em condições de estresse biótico. Esses compostos desempenham papel fundamental na defesa contra insetos, patógenos e até mesmo contra a competição com outras plantas. Entre esses metabólitos, os compostos fenólicos destacam-se por sua participação direta na resposta defensiva, sendo frequentemente depositados nas paredes celulares, onde atuam como barreiras químicas e como precursores de polímeros estruturais, como a lignina, conferindo maior resistência mecânica aos tecidos (Taiz e Zeiger, 2013; Larbat et al., 2014).

Estudos realizados com o musgo *Physcomitrella patens*, um organismo modelo, demonstraram que, após a inoculação por *Colletotrichum gloeosporioides*, ocorre fortificação da parede celular por meio da incorporação de compostos fenólicos, associada à ativação da via do fenilpropanoide. Esse reforço estrutural e químico representa uma estratégia de resistência que pode dificultar o avanço do patógeno nos tecidos, embora nem sempre seja suficiente para impedir completamente a colonização fúngica (Reboledo et al., 2015).

No patossistema feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris*) e *Colletotrichum lindemuthianum*, análises histoquímicas indicaram que a indução de resistência, promovida por tratamentos com *Trichoderma* spp. e fosfito de potássio, está associada ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), à deposição de lignina e à ocorrência de reação de hipersensibilidade em células próximas ao sítio de penetração do patógeno. Esses eventos refletem profundas modificações estruturais e bioquímicas nos tecidos vegetais, evidenciadas por colorações histoquímicas específicas para compostos envolvidos nos mecanismos de defesa (Figueira et al., 2020)

Em infecções de flores cítricas causadas por *Colletotrichum acutatum*, agente etiológico da doença conhecida como “postbloom fruit drop”, análises histoquímicas revelaram alterações bioquímicas marcantes nos tecidos do hospedeiro associadas à colonização fúngica. Observou-se acúmulo de substâncias lipofílicas em regiões adjacentes aos acervulos e sob áreas necróticas, bem como a presença de compostos pécnicos nas paredes celulares, especialmente em locais onde ocorreu a dissolução da lamela média durante a penetração intercelular. Adicionalmente, foi registrada a liberação de proteínas em tecidos em contato direto com as hifas, acompanhada por modificações na parede celular do fungo, além de alterações na distribuição de grãos de amido,

indicando redirecionamento metabólico nos tecidos infectados. Também se verificou a lignificação de células estromáticas associadas aos acérvulos e a formação de cristais de oxalato em áreas colonizadas pelo patógeno (Marques et al., 2013).

2.3. Família Fabaceae

A família Fabaceae possui 795 gêneros e quase 20.000 espécies, sendo assim uma das três maiores famílias de plantas. A família possui extrema importância tanto ecológica pela capacidade das suas espécies de se associarem com bactérias fixadoras de nitrogênio, sendo dessa forma uma das principais fontes de nitrogênio nos ecossistemas terrestres (ILPWG, 2017), quanto econômica, possuindo espécies amplamente utilizadas para a alimentação, como a soja (*Glycine max* (L.) Merrill) que está presente em basicamente todos os alimentos industrializados (Pereira, 2004).

2.4. Gênero *Phaseolus* spp.

Pertencente à família Fabaceae o gênero *Phaseolus* spp. possui cerca de 70 espécies das quais cinco foram domesticadas e possuem importância socioeconômica: *P. vulgaris*, *P. lunatus*, *P. coccineus*, *P. acutifolius* e *P. polyanthus* (Garcia et al., 2021). As espécies do gênero *Phaseolus* estão entre as plantas cultivadas mais antigas do novo mundo, cujo cultivo é realizado em sistemas de monocultura, possuindo achados arqueológicos de domesticação de até 5600 anos atrás (Kaplan; Lynch, 1999).

O gênero possui expressiva importância agrônômica, *P. vulgaris* (feijão-comum) é considerada uma das principais leguminosas fornecedora de grãos do mundo, na África a espécie ocupa a terceira colocação no ranking das mais importante de proteína dietética, ficando atrás apenas do milho e da mandioca (Nkhata et al., 2020). Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (2022) os cinco maiores produtores de feijão no mundo em ordem são Índia, Brasil, Myanmar, China e Estados Unidos, sendo responsáveis por produzir cerca de 11,9 milhões de toneladas ao ano, representando aproximadamente 42% da produção mundial.

2.5. *Phaseolus lunatus* L.: Aspectos gerais da espécie e sua importância na agricultura de subsistência e diversidade genética

Phaseolus lunatus popularmente conhecido como feijão-fava ou feijão-de-lima, pertence à família Fabaceae, do ponto de vista socioeconômico é considerada a segunda espécie mais

importante dentro do gênero *Phaseolus* (Seidu et al., 2015). A espécie é considerada uma das principais leguminosas cultivadas em países tropicais e isso ocorre por ser mais tolerante à seca, ao excesso de umidade e calor que o feijão-comum (Vieira, 1992).

O feijão-fava é uma planta perene que geralmente tem o hábito de crescimento trepador com uma gema terminal se desenvolvendo em um broto, ou é uma planta anã com a gema terminal se desenvolvendo completamente em uma inflorescência. A inflorescência, disposta em racemos, pode variar em tamanho, mas geralmente é maior que as folhas. Possui numerosas flores que podem ser brancas, branco-amareladas, rosa, roxas ou violetas com tons intermediários e têm tamanho inferior a 10 mm. As brácteas são ovais alongadas e medem entre 1 e 2 mm (Beyra e Artiles, 2004).

O feijão-fava possui germinação epígea com folhas trifolioladas, geralmente de cor escura e com vida útil mais longa em comparação com outras espécies do gênero, persistindo mesmo após o amadurecimento das vagens que por sua vez são bastante compridas e de forma geralmente oblonga e recurvada, com duas alturas distintas (ventral e dorsal) e número de sementes por vagem variando de duas a quatro (Santos et al., 2002). Uma característica distintiva do feijão-fava em comparação com outros feijões são as linhas que se irradiam do hilo em direção à região dorsal das sementes, porém em algumas variedades estas linhas podem não ser tão visíveis (Vieira, 1992).

Um aspecto marcante das sementes de *P. lunatus* é a ampla variedade de cores e tamanhos, essa variedade é utilizada como critério para explicar a origem e a diversidade genética da espécie (Vargas, 2003). A diversidade de sementes crioulas de fava fornece uma riqueza de conhecimento que contribui para diversas estratégias de uso e manejo. Estes incluem, hábitos alimentares, armazenamento de grãos/sementes e produção de rações dessa forma, resultam em um material que apresenta ampla adaptabilidade a diferentes ambientes (Santos et al., 2019).

O feijão-fava destaca-se por sua ampla variabilidade genética. Essa variabilidade genética torna a espécie valiosa para programas de melhoramento genético, permitindo, assim, a seleção de características desejáveis em culturas de maior interesse agrícola (Lustosa-Silva et al., 2022). Muitas são as teorias quanto à origem da variabilidade apresentada pelo feijão-fava, para Mackie (1943), o centro de origem é a América Central, especificamente na Guatemala. De lá, a espécie se dispersou em três direções, possivelmente seguindo rotas comerciais: a) Ramificação Inca: Seguindo para o sul, alcançou a América do Sul através da Colômbia, Equador e Peru. As sementes dessa ramificação são grandes e achatadas, conhecidas como grupo Lima Grande. b) Ramificação Hopi: Movendo-se para o norte, chegou aos Estados Unidos, adaptando-se a climas frios. As

sementes dessa ramificação são de tamanho médio e formato achatado, denominadas grupo Sieva.

c) Ramificação Caribe: Dirigindo-se para leste, atingiu as Antilhas e, posteriormente, o norte da América do Sul, caracterizado por zonas calcárias e secas.

O feijão-fava desempenha um importante papel na agricultura de subsistência nos ambientes tropicais úmidos da América e como fonte de nutrientes para populações rurais na América do Sul e África (Silva et al., 2015). Sendo uma alternativa sustentável para a produção de alimentos, o feijão-fava é rico em proteína, carboidratos, ferro, cálcio e fibras, a maior parte do consumo é dos grãos secos ou verdes, que em países ocidentais são cozidos e consumidos (Kahlon et al., 2005; Moses et al., 2012).

2.6. Importância econômica do Feijão-fava

Os Estados Unidos se destacam no mundo no cultivo do feijão-fava pela alta capacidade de produção, pelo desenvolvimento de variedades adaptadas com crescimento ereto, ciclo curto e resistência a doenças. Além disso, os investimentos em pesquisas práticas de gestão e o uso intensivo de tecnologias contribuem significativamente para esta relevância. (Long et al., 2014). Outro país com destaque na produção de fava é o Peru. Na região de Ica, cultivava-se uma variedade de fava de sementes grandes e brancas, conhecida como "pallar". Esta variedade, com baixa quantidade de ácido cianídrico, é destinada principalmente à exportação (Vigil, 2009).

No Brasil, os estados do semiárido nordestino têm o feijão-fava como uma das principais leguminosas (Nascimento et al., 2017). Entre os dez estados produtores de feijão-fava no país, oito são nordestinos, e concentram cerca de 99% da produção nacional que corresponde a 12 mil toneladas plantadas em uma área de 35 mil hectares, a Paraíba é o maior produtor, seguida do Ceará, Pernambuco e Rio Grande do Norte. Alagoas é o sexto estado com maior produção, cerca de 488 toneladas em uma área de 528 hectares, o que corresponde a 4% da produção nacional (IBGE, 2022).

O feijão-fava pode ser plantado durante todo o ano, em áreas baixas e quentes. Na região Nordeste do Brasil, predominam os plantios de sequeiro, com a semeadura, sendo realizada no início do período chuvoso. Adaptado bem à má distribuição das chuvas da região. Desenvolve-se melhor em solo arenoargiloso, fértil, bem drenado, com pH entre 5,6 e 6,8, utilizando-se espaçamento de 0,5 a 1,0 m entre fileiras, para as cultivares anãs e trepadoras, respectivamente, e de 0,5 m entre covas. Plantam-se de 3 a 4 sementes por cova, permanecendo duas plantas após o desbaste (Azevedo et al., 2003).

No geral o banco de germoplasma utilizado pelos agricultores do nordeste brasileiro é originário de suas próprias colheitas e comercialização entre comunidades rurais. Esses são genótipos cultivados há muito tempo, consideradas variedades crioulas, utilizadas principalmente as de crescimento indeterminado (Carmo et al., 2015). Neste contexto, destaca-se particularmente a necessidade de melhoramento genético para desenvolver variedades de feijão-fava para as populações que as utilizam para subsistência. A produção agrícola enfrenta um aumento da procura global de alimentos, devido tanto ao crescimento contínuo da população mundial como ao aumento significativo do consumo per capita resultante do desenvolvimento económico dos países (Henry, 2010).

2.7. Antracnose

A antracnose é uma importante doença comumente encontrada nas regiões produtoras de frutas, que afeta a parte aérea das plantas, o que a classifica como importante doença de pré e pós-colheita. Em condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da doença, temperatura elevada e alta umidade, o controle torna-se difícil, e o problema agrava-se ainda mais, caso haja ocorrência associada a outras doenças, como por exemplo a mancha bacteriana (Fischer et al., 2005).

A antracnose é uma doença causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, apresentam ampla distribuição geográfica e vasta gama de hospedeiros, sendo responsáveis pela redução de rendimento econômico nas principais plantas de interesse agrônomo. A disseminação desses fungos é realizada pelo vento, água, animais e ferramentas. Nos frutos, os sintomas são caracterizados por lesões necróticas deprimidas, geralmente de forma circular. No centro dessas lesões, em condições ambientais favoráveis, surge uma massa mucilaginosa rosada contendo os conídios, mesmo infectados os frutos não caem mantendo a doença em campo durante muito tempo (Kimati et al, 2005).

Colletotrichum spp. pertence ao grupo dos fungos Anamórficos, classe Sordariomycetes, ordem Incertae sedis e família Glomerellaceae (Dictionary of The Fungi, 2008). O micélio é septado, os conídios são hialinos e unicelulares; e a reprodução é assexuada através de conídios produzidos em acérvulos. (Putzke J.; Putzke M.; 2013). O gênero surgiu na Terra há 139 milhões de anos, e encontrou condições ambientais adequadas para seu estabelecimento. A formação de novas espécies dentro do gênero ocorreu há 54 milhões de anos e durou todo o Cenozóico (Kumar, et al., 2017). Atualmente, um amplo estudo realizado com base em uma abordagem polifásica

determinou que existem 248 espécies atualmente aceitas, as quais estão distribuídas em 14 grupos de complexos de espécies e 13 espécies únicas. (Jayawardena, et al., 2021).

As espécies de *Colletotrichum* podem exibir diferentes estratégias de infecção que variam entre diferentes grupos. Podendo ser classificados como necrotróficos, hemibiotróficos, latentes ou quiescentes e endofíticos. O estilo de vida hemibiotrófico é o mais prevalente (De Silva et al., 2017). O ciclo de vida de um patógeno hemibiotrófico ocorre em vários estágios. Primeiro, forma-se um opressório, que penetra na célula usando uma combinação de força mecânica e degradação enzimática. Hifas biotróficas bulbosas formam-se dentro da célula epidérmica e são circundadas por uma membrana plasmática do hospedeiro intacta. Eventualmente, o fungo entra em uma fase necrotrófica e diferencia hifas finas e de crescimento rápido que matam e destroem o tecido hospedeiro, resultando nos sintomas da antracnose apresentada pelos hospedeiros (O'connell et al., 2012).

2.8. Antracnose no feijão-fava: agente causal, sintomatologia e manejo

Colletotricum truncatum foi descrito pela primeira vez em associação com a antracnose do feijão-fava nos Estados Unidos (Andrus E Moore, 1935). A ocorrência de *C. truncatum* (Schwein.), agente causal da antracnose do feijão fava (*Phaseolus lunatus* L.), somente foi relatada no Brasil em 1992, apresentando sintomas semelhantes a antracnose na cultura em Viçosa, no Estado de Minas Gerais. Posteriormente, esse patógeno foi constatado em plantios no Nordeste do Brasil. A antracnose, destaca-se entre as doenças fúngicas que tem prejudicado grandemente a cultura do feijão-fava, causando grandes perdas na produção e qualidade de vagens e, assim, prejudicando a comercialização (Damm et al. 2009).

Ao estudar a prevalência de espécies de *Colletotrichum* no feijão-fava no nordeste brasileiro, Cavalcante et al. (2019), identificou cinco espécies, sendo elas *C. truncatum*, *C. brevisporum*, *C. lobatum*, *C. plurivorum* e *C. musicola*. Sendo *C. truncatum* a mais prevalente em termos de distribuição nos órgãos das plantas e áreas geográficas, mas também foi a mais virulenta no feijão-fava de todas as espécies recuperadas sendo também comumente associada à antracnose em muitas outras plantas da família Fabaceae, como soja, amendoim e feijão-caupi.

Colletotrichum. truncatum produz conídios falcados e corresponde ao principal agente causal da antracnose no feijão-fava. Os sintomas da doença podem ser observados em toda parte aérea da planta e nas sementes onde as lesões são pequenas e deprimidas, de coloração marrom-escura ou até mesmo negra quando observadas nos cotilédones (Carvalho et al., 2010). Nas folhas a

antracnose causa manchas marrom avermelhadas na face adaxial ao longo das nervuras, seguidas de necrose na superfície. Nas vagens, onde se formam os acérvulos do patógeno, com aspecto de uma massa esbranquiçada, de onde saem numerosos acérvulos, o fungo causa lesões deprimidas, grandes e avermelhadas. (Cavalcante et al., 2019). As sementes são importantes veículos de disseminação de patógenos, podendo dar origem a epidemias em áreas agrícolas. Esses microrganismos podem estar presentes na superfície, no interior ou associados às sementes, manifestando-se sob diferentes formas de propagação, incluindo estruturas de resistência características de fungos, bactérias, nematoides e vírus. (Santos et al. 2011).

A epidemiologia da antracnose causada por *C. truncatum* no feijão-fava está diretamente ligada aos fatores climáticos, sendo a temperatura um fator relacionado ao ciclo de vida do patógenos. O patógeno prospera em temperaturas moderadas a quentes, variando entre 20°C e 30°C. As temperaturas ideais facilitam a germinação dos conídios, a penetração no tecido hospedeiro e a subsequente colonização. Os índices de precipitação são um determinante para a severidade da antracnose em campo. O período chuvoso mantém a umidade das folhas trazendo as condições ideais para germinação dos conídios nas superfícies das folhas, favorecendo o início da infecção. A chuva também ajuda a disseminar o patógeno para plantas ainda não infectadas (Gomes et al. 2023)

A falta de registro de fungicidas inviabiliza o uso do controle químico da antracnose no feijão-fava (Nascimento et al., 2017). Uma alternativa mais sustentável para tratar a antracnose é o uso de variedades resistentes e o uso de indutores de resistência. Em condições de campo variedades de feijão-fava demonstraram apresentam níveis de resistência ao ataque de *C. truncatum* (Carmo et al., 2015). No entanto, as variedades são do tipo crioula e apresentam limitações para cultivos em áreas onde não estão adaptadas.

Uma alternativa à ausência de variedades resistentes é o uso da resistência sistêmica induzida. O sistema de defesa natural das plantas pode ser ativado e potencializado por substâncias indutoras, que promovem a ativação de enzimas relacionadas à defesa. A regulação dessas enzimas, associadas à patogênese, permite que as plantas resistam ao ataque de patógenos e mantenham a produtividade elevada. (Adrees et al., 2019) A aplicação de fosfito de potássio demonstrou um bom nível de controle, induzindo significativamente a produção das enzimas de defesa da planta, como peroxidase e fenilalanina amônia liase (Silva et al., 2015). O acibenzolar-S-metil, manano-oligossacarídeo fosforilado, silicato de cálcio e magnésio, biomassa cítrica e

argila silicatada são alternativas para o controle da antracnose do feijão fava. Os efeitos variam de acordo com as características da cultivar, dose aplicada e condições de cultivo (Gomes e Nascimento, 2018).

Dessa forma, torna-se necessário analisar as alterações histopatológicas e histoquímicas na interação entre *C. truncatum* e *P. lunatus*, a fim de compreender melhor os mecanismos de defesa da planta, subsidiar a seleção de genótipos mais tolerantes e orientar estratégias para indução de respostas defensivas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material vegetal

As sementes das variedades PLBP4, OVIC e G65 de feijão-fava foram obtidas do banco de sementes da Clínica Fitossanitária do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. As plantas foram cultivadas em manilhas e mantidas em campo aberto, de onde foram coletadas folhas saudáveis. A seleção do material foliar foi realizada de acordo com o estágio de desenvolvimento, sendo coletadas apenas folhas totalmente estendidas, que posteriormente passaram por desinfecção em etanol 70% (Rojo-Báez et al., 2016).

3.2. Inoculação

A inoculação foi realizada utilizando dois isolados de *C. truncatum* (ICT12 e ICT16), obtidos da coleção fúngica da Clínica Fitossanitária do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. Os isolados foram previamente reativados em BDA (batata-dextrose-ágar). A pureza dos cultivos conduzidos em placas de Petri (90x15mm) foi avaliada após sete dias de crescimento, por meio da observação das características morfológicas dos esporos. As suspensões de esporos foram preparadas pela adição de 20 mL de água destilada esterilizada às placas, seguida da raspagem da superfície do meio com alça de Drigalski. Afim de determinar a viabilidade dos conídios, uma gota de 50 µL de cada suspensão foi transferida para uma lâmina de microscopia, a qual foi acondicionada em placa de Petri forrada com papel filtro umedecido, de modo a manter câmara úmida. Para evitar o contato direto da lâmina com o papel, utilizou-se um suporte plástico confeccionado com canudo plástico. Após 24 horas, procedeu-se à avaliação da germinação dos conídios, a partir da observação da emissão de tubos germinativos e da formação de apressórios.

Uma vez confirmada a viabilidade dos conídios, foi feita uma nova suspensão de esporos, onde a concentração de esporos da suspensão foi determinada por contagem direta em câmara de Neubauer e ajustada por diluição para a concentração de 1×10^5 esporos/mL (Alfenas e Ferreira, 2007). Com auxílio de uma micropipeta foram depositados 10 µL da suspensão de esporos na face adaxial das folhas previamente selecionadas e desinfetadas. Como controle utilizou-se folhas inoculadas apenas com água destilada estéril. Todas as folhas foram colocadas em placas de petri de vidro com papel filtro esterilizado e umedecido com água destilada para aumentar a umidade relativa e mantidas em bancada, sob temperatura média de 25 °C, em condições de luminosidade

ambiente não controlada, caracterizadas por fotoperíodo natural durante 10 dias. Cada experimento foi conduzido com uma variedade por vez, adotando-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 x 14, considerando dois isolados de *C. truncatum* e quatorze tempos de coleta, com três repetições por tratamento.

3.3. Severidade da antracnose em *P. lunatus*

Com a finalidade de determinar a severidade da antracnose nas variedades PLBP4, G65, OVIC, quando inoculadas com ambos os isolados de *C. truncatum* a área lesionada foi mensurada no décimo dia após a inoculação, utilizando três folhas selecionadas aleatoriamente por tratamento. As mensurações foram realizadas por meio de análise de imagens digitais, utilizando o software ImageJ de acordo com a metodologia adaptada de Pride, Vallad e Agehara (2020), permitindo a obtenção da área das lesões em centímetros quadrados. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a fim de verificar a existência de diferenças significativas entre os tratamentos. Quando constatada significância estatística, procedeu-se à comparação das médias por meio do teste de agrupamento de Scott–Knott, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, utilizando o software GENES. A representação gráfica dos resultados foi realizada utilizando o software Python (Python Language Reference, version 3.X.).

3.4. Teste de impressão

O acompanhamento da formação das estruturas fúngicas na superfície foliar foi realizada pelo teste de impressão utilizando esmalte incolor (Ludurana®). Uma fina camada de esmalte foi cuidadosamente distribuída sobre a área de inoculação e, após a completa secagem, a película formada foi removida e corada com azul de algodão 5% em lactofenol. Em seguida, o material foi montado em lâmina com 100 µL de água destilada, recoberto com lamínula e analisado em microscópio óptico (OLYMPUS CX31) (Marques e Soares, 2021).

3.5. Análises histológicas

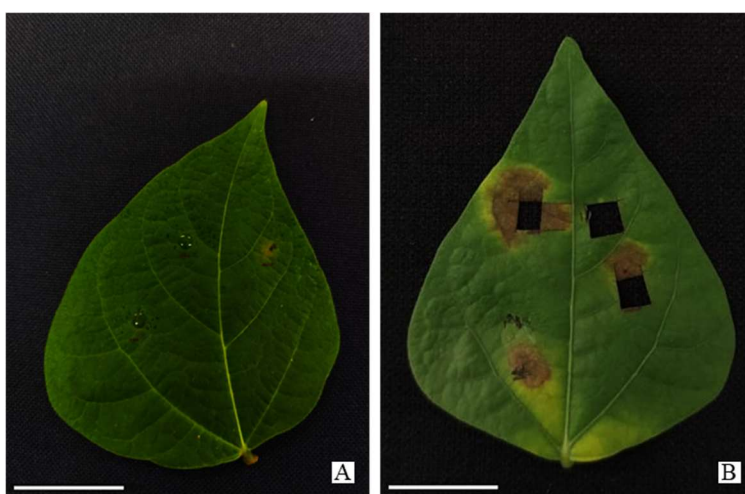
A inoculação foi realizada em três pontos aleatórios previamente demarcados com caneta à prova d'água (Figura 1A). A partir desses pontos, foram coletadas amostras de tecido nos tempos de 2, 4, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 72, 96, 120 e 148 horas após a inoculação (hai). Nos estágios em que as lesões se encontravam bem desenvolvidas, foram coletados tanto tecidos lesionados

quanto áreas adjacentes ainda saudáveis, visando à visualização da zona de transição entre tecido sadio e infectado (Figura 1B), seguindo a metodologia adaptada de Rojo-Báez (2016). As amostras coletadas foram submersas em solução fixadora FAA (formaldeído 10%, ácido acético 5% e etanol 50–96%) por 24 horas. Em seguida, os tecidos foram submetidos a desidratação gradativa em série alcoólica (70, 80, 96 e 100%).

Após a desidratação, os tecidos foram infiltrados em historesina nas proporções 1:1, 2:1 e 0:1 (v/v) de etanol/solução de infiltração (50 mL de resina básica e 0,5 g de ativador – Leica Historesin® Heraeus Kulzer, Hanau, Germany) por duas horas cada etapa. Em seguida, as amostras foram submetidas à solução de infiltração a 100% por 24 horas. Posteriormente, foram transferidas para moldes plásticos para inclusão, utilizando-se uma mistura composta por 1 mL de endurecedor e 15 mL da solução de infiltração. A polimerização foi realizada por 10 minutos à temperatura ambiente, seguida de 10 minutos em estufa a 60 °C

Os blocos de resina foram seccionados com 5 µm de espessura em micrótomo rotativo. As secções foram montadas em lâminas de vidro e coradas com a dupla coloração de azul de algodão 5% em lactofenol (Macedo, 1997) por 20 minutos e safranina aquosa 1% por 10 segundos (Marques, Soares & Appezzato-da-glória, 2013). Após cada uma das colorações, as lâminas passaram por três lavagens de um minuto em água destilada. Em seguida, as lâminas histológicas foram montadas em resina sintética Entellan® (Merck, Darmstadt, Alemanha) e observadas em microscópio Opticam® modelo O400S acoplado com câmera.

Figura 1. Inoculação e amostragem em folhas de *Phaseolus lunatus*: (A) Pontos de inoculação previamente demarcados com caneta à prova d'água. (B) áreas de coleta de tecidos, barra: 2 cm.



Fonte: Autor, 2026

3.6. Análises histoquímicas

As análises histoquímicas foram realizadas com material fresco obtido diretamente da área de inoculação. Nas análises foram verificados a presença de fenólicos, flavonóides, terpenóides, alcalóides, proteínas, lipídios e carboidrato (Johansen 1940; Dai et al. 1995; Mondolot et al. 2006; David e Card 1964; Svendsen e Verpoorte 1983; Pearse 1968; Cortelazzo e Vidal 1991 e Strasburger 1913). Os fragmentos de tecido vegetal foram seccionados manualmente, com o auxílio de lâmina apropriada, visando à obtenção de cortes delgados e representativos das regiões infectadas. Em seguida, os cortes foram submetidos a testes histoquímicos específicos, de acordo com reagentes classicamente descritos na literatura. A solução de Lugol (Iodo, 1,0 g; iodeto de potássio, 2,0 g e água destilada, até completar 100 mL.) foi empregada para a detecção de carboidratos (Johansen, 1940), enquanto os lipídios totais foram evidenciados por meio da coloração com Sudan Black B (Jensen, 1962). A presença de compostos fenólicos foi identificada utilizando cloreto férrico, conforme metodologia descrita por Johansen (1940). Após a aplicação dos reagentes, os cortes foram analisados em microscópio óptico (OLYMPUS CX31), permitindo a visualização e o registro da distribuição dos compostos nos tecidos avaliados.

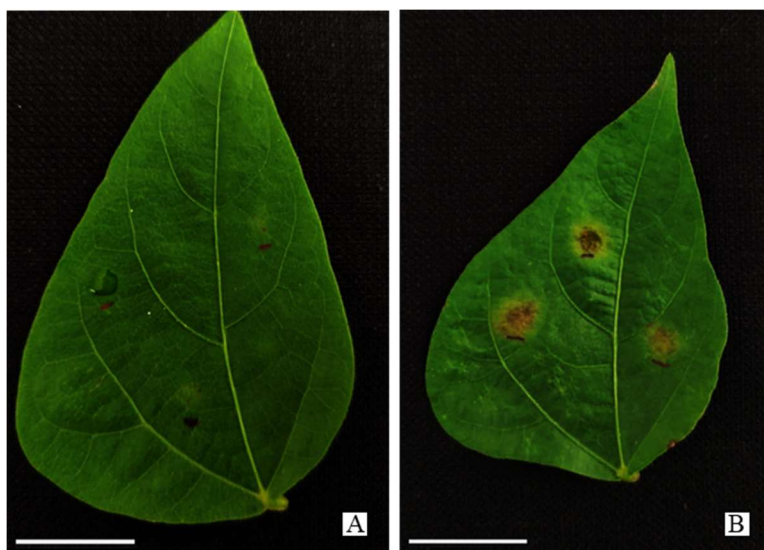
4. RESULTADOS

4.1 Severidade e sintomatologia da antracnose causada por *C. truncatum* em *P. lunatus*

No experimento de inoculação dos isolados *C. truncatum* (ICT16 e ICT 12) em folhas destacadas das variedades OVIC, G65 e PLBP4 de *P. lunatus*, o surgimento de sintomas aparentes variou entre os isolados ICT12 e ICT16 e entre variedades OVIC, G65 e PLBP4. Nos tecidos inoculados com o isolado ICT12, os sintomas iniciais manifestaram-se predominantemente como leve clorose na área de inoculação (Figura 1A). Nas variedades OVIC e G65, o início do processo clorótico foi observado, respectivamente, com 48 e 72 horas após a inoculação (hai), enquanto na variedade PLBP4 os sintomas surgiram apenas aos 120 hai., e não foram observadas lesões necróticas durante os períodos avaliados.

Nos tecidos inoculados com o isolado ICT16, nas variedades G65 e OVIC, os sintomas aparentes surgiram mais precocemente, com 48 hai. Em contraste, na variedade PLBP4, os sintomas surgiram mais tardiamente sendo observados apenas com 96 horas após a inoculação (hai). Em todas as variedades os sintomas caracterizaram-se por mancha necrótica com coloração amarronzada circundada por uma área clorótica (Figura 1B).

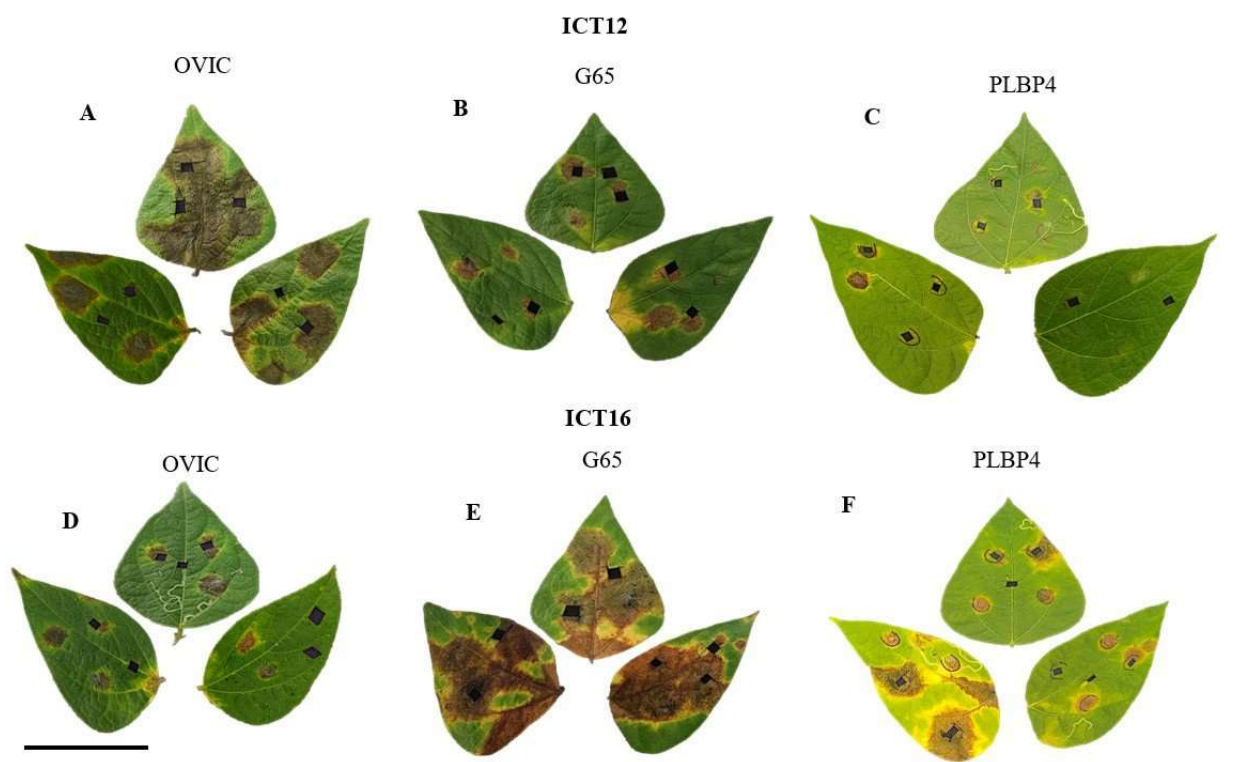
Figura 2. Sintomas iniciais em tecidos foliares inoculados com isolados de *Colletotrichum*: (A) isolado ICT12, com leve clorose na área de inoculação; (B) isolado ICT16, com manchas necróticas circundadas por halo clorótico, barra: 2 cm



Fonte: Autor, 2026

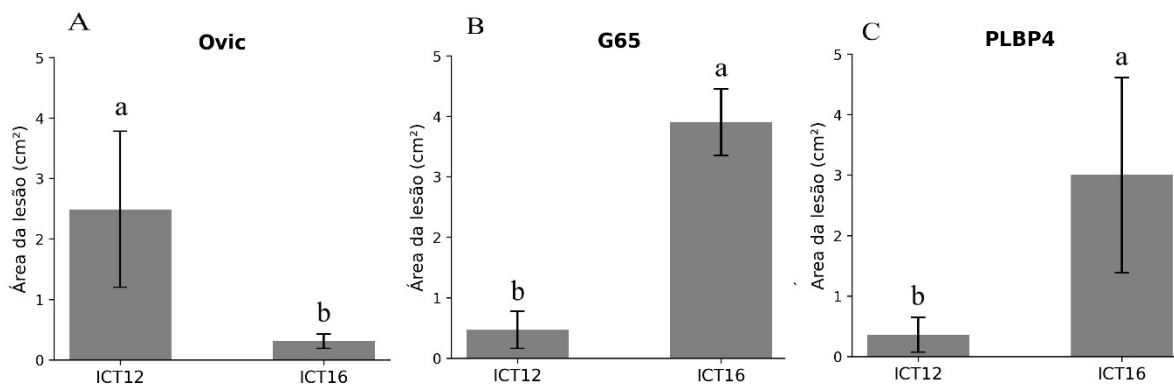
Na avaliação de severidade realizada aos 10 dias após a inoculação, observou-se variação significativa da antracnose entre os isolados e as variedades avaliadas. Para o isolado ICT12, a menor severidade foi registrada na variedade G65, com área média de lesão de aproximadamente 0,4 cm², seguida da PLBP4, com cerca de 0,4 cm². Na variedade OVIC, esse isolado apresentou maior agressividade, com área média de lesão próxima de 2,5 cm². Em relação ao isolado ICT16, a severidade foi mais elevada nas variedades G65 e PLBP4, cujas áreas médias de lesão atingiram aproximadamente 3,9 e 2,9 cm², respectivamente, enquanto na variedade OVIC observou-se menor severidade, com área média de lesão em torno de 0,3 cm². (Figuras 2 e 3).

Figura 3. Aspecto das lesões de antracnose em folhas de *Phaseolus lunatus* inoculadas com *Colletotrichum truncatum*, aos 10 dias após a inoculação. (A–C) Isolado ICT12 nas variedades OVIC, G65 e PLBP4, respectivamente; (D–F) Isolado ICT16 nas variedades OVIC, G65 e PLBP4, respectivamente, barra: 2 cm.



Fonte: Autor 2026

Figura 4. Valores médios de severidade das três variedades de feijão-fava 10 dias após a inoculação com ambos os isolados de *Colletotrichum truncatum*. (A) variedade PLBP4; (B) variedade G65; (C) variedade OVIC.

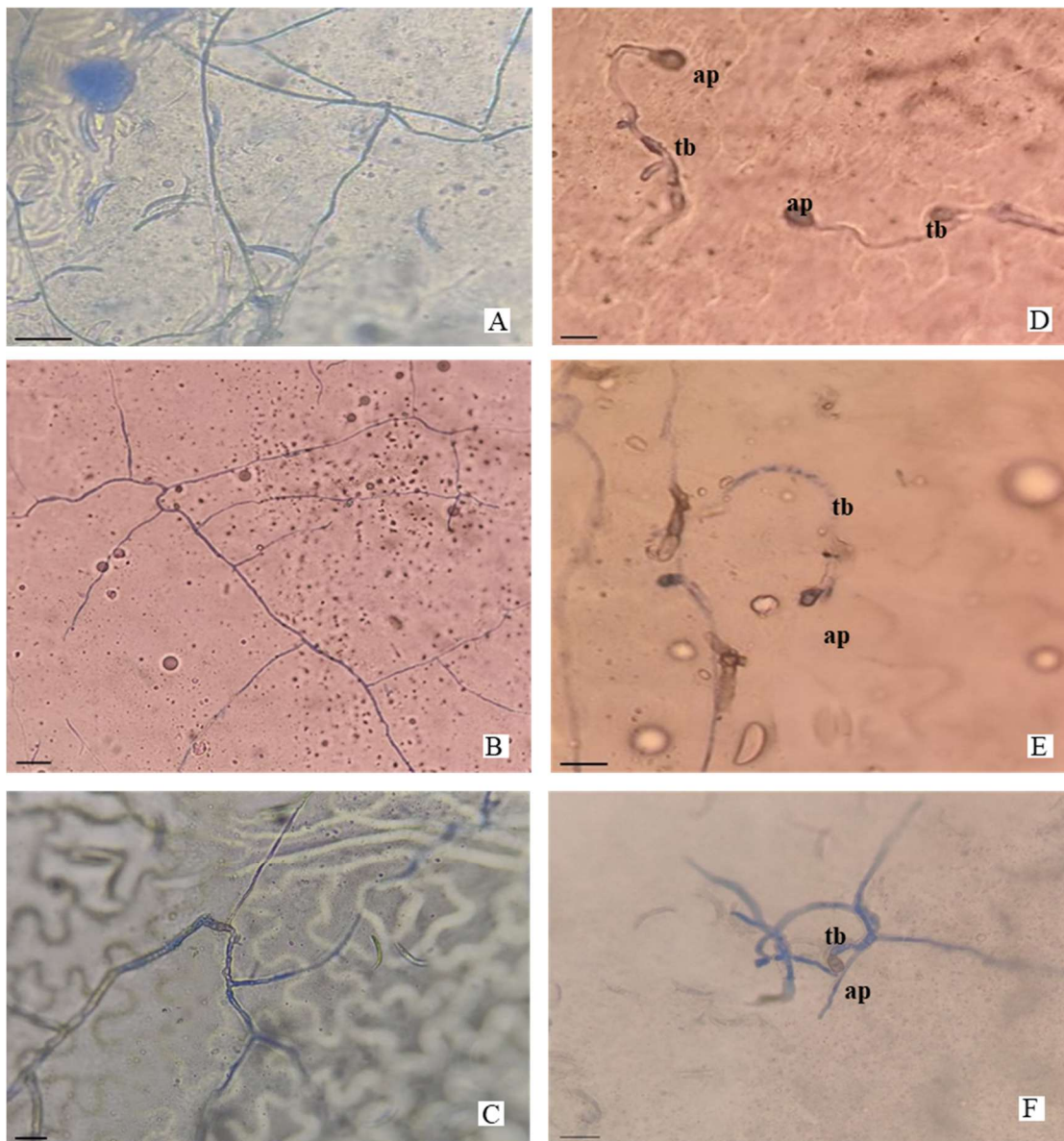


Fonte: Autor, 2026

4.2. Histopatologia dos tecidos de *P. lunatus* inoculados com isolado ICT12 de *C. truncatum*.

A germinação dos conídios foi observada em momentos distintos entre as variedades avaliadas, ocorrendo às 6 horas após a inoculação (hai) nas variedades PLBP4 (Figura 4A) e G65 (Figura 4B), enquanto na variedade OVIC esse processo foi registrado de forma mais cedo, às 4 hai (Figura 4C). Em relação à formação de apressórios, verificou-se que esse evento ocorreu de maneira mais tardia, apresentando variação temporal entre as variedades. Na variedade PLBP4, a formação de apressórios foi observada às 20 hai (Figura 4D), ao passo que na variedade G65 ocorreu às 18 hai (Figura 4E). Já na variedade OVIC, os primeiros apressórios foram observados, às 12 hai (Figura 4F), evidenciando diferenças no ritmo de desenvolvimento das estruturas de infecção em função do genótipo do hospedeiro.

Figura 5. Germinação de conídios e formação de apressórios do isolado ICT12 em folhas das variedades PLBP4 (A e D); G65 (B e E) e OVIC (C e F); (ap) apressório; (tg) tudo germinativo; barra: 6 μ m

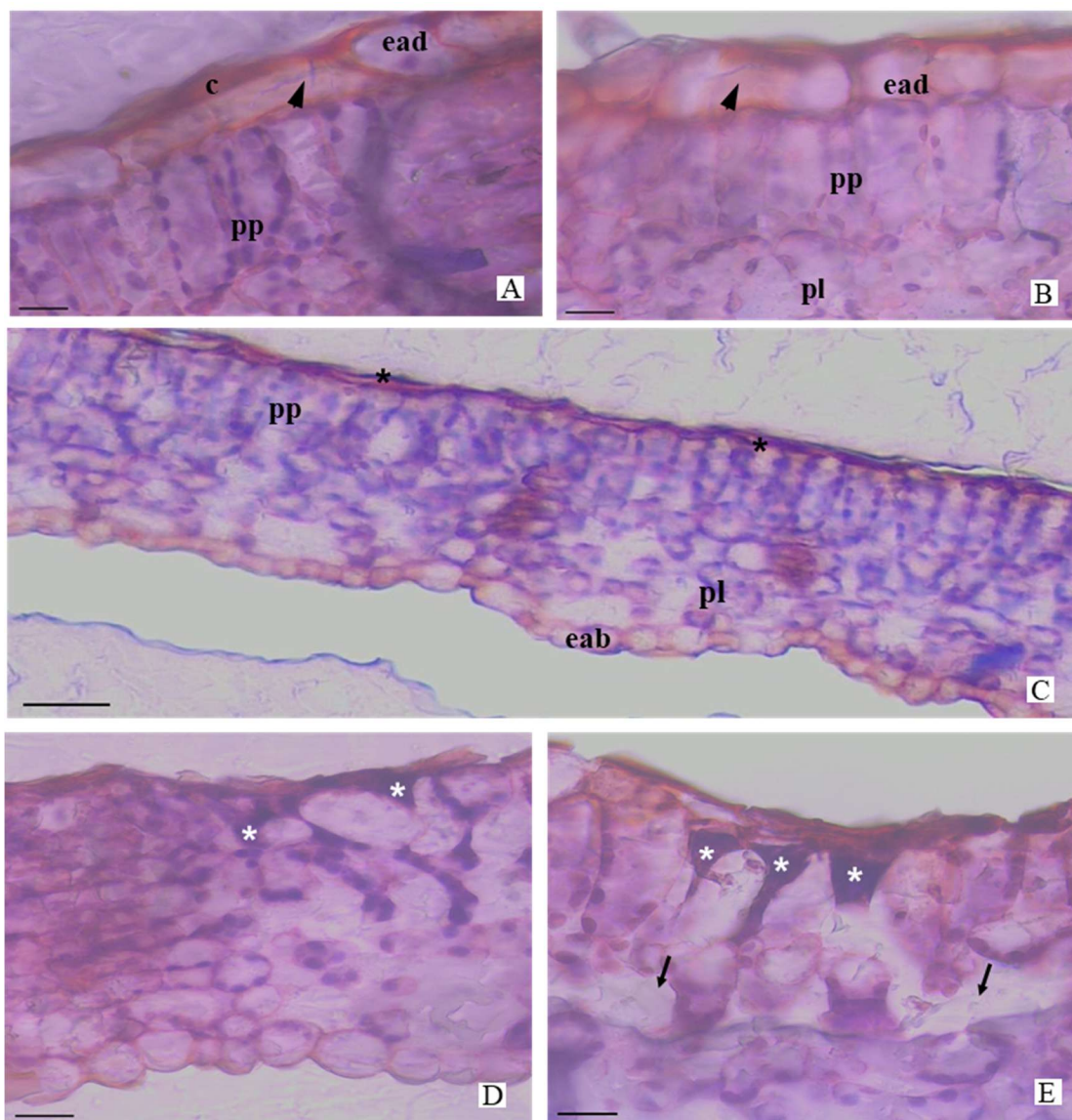


Fonte: Autor, 2026

Na variedade OVIC, as análises histopatológicas revelaram que os primeiros sinais do patógeno foram registrados as 24 hai, quando hifas passaram a ocupar células da epiderme (Figura 5A e B). Com 48 hai, observou-se degradação das células epidérmicas (Figura 5C) com 72 hai iniciou-se a degradação do parênquima paliádico, com reorganização dos cloroplastos em massas

(Figura 5D). Aos 120 hai, verificou-se avanço da degradação no parênquima, com presença de amplos espaços intercelulares indicativas da degradação das paredes celular (Figura 5E).

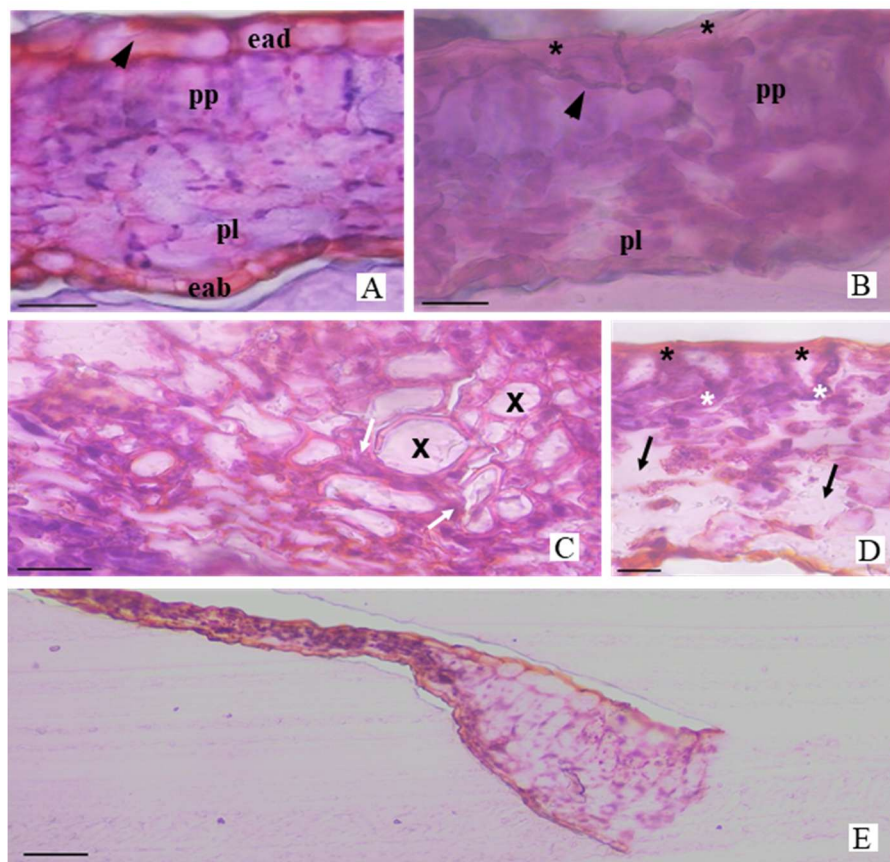
Figura 6. Micrografias ópticas das folhas da Variedade OVIC inoculadas com o isolado ICT12: (A e B) hifas intracelulares epidérmicas com 24 hai (ponta de seta); (C) degradação da epiderme com 48 hai (asterisco preto); (D) degradação no mesofilo e cloroplasto agrupado 72 hai (asterisco branco); (E) cloroplasto agrupado (asterisco branco), amplos espaços intercelulares indicativos da degradação das paredes celular (seta preta); (c) cutícula; (ead) epiderme adaxial; (eab) epiderme abaxial; (pp) parênquima paliçádico; (pl) parênquima lacunoso (x) xilema. Barra: 100 µm



Fonte: Autor, 2026

Na variedade G65, a colonização iniciou-se no lúmen das células epidérmicas com 30 hai (Figura 6A). Com 48 hai, observou-se a presença de hifas no parênquima e degradação das células epidérmicas (Figura 6B). Com 72 hai, o patógeno alcançou a região da nervura central, colonizando o espaço intercelular dos elementos de vaso do xilema, concomitantemente à degradação do mesofilo (Figura 6C). Com 148 hai, ocorreu o agravamento da degradação e colapso estrutural do mesofilo com cloroplastos agrupados em massas, com diferenças evidentes entre áreas saudias e já degradadas (Figura 6D e E).

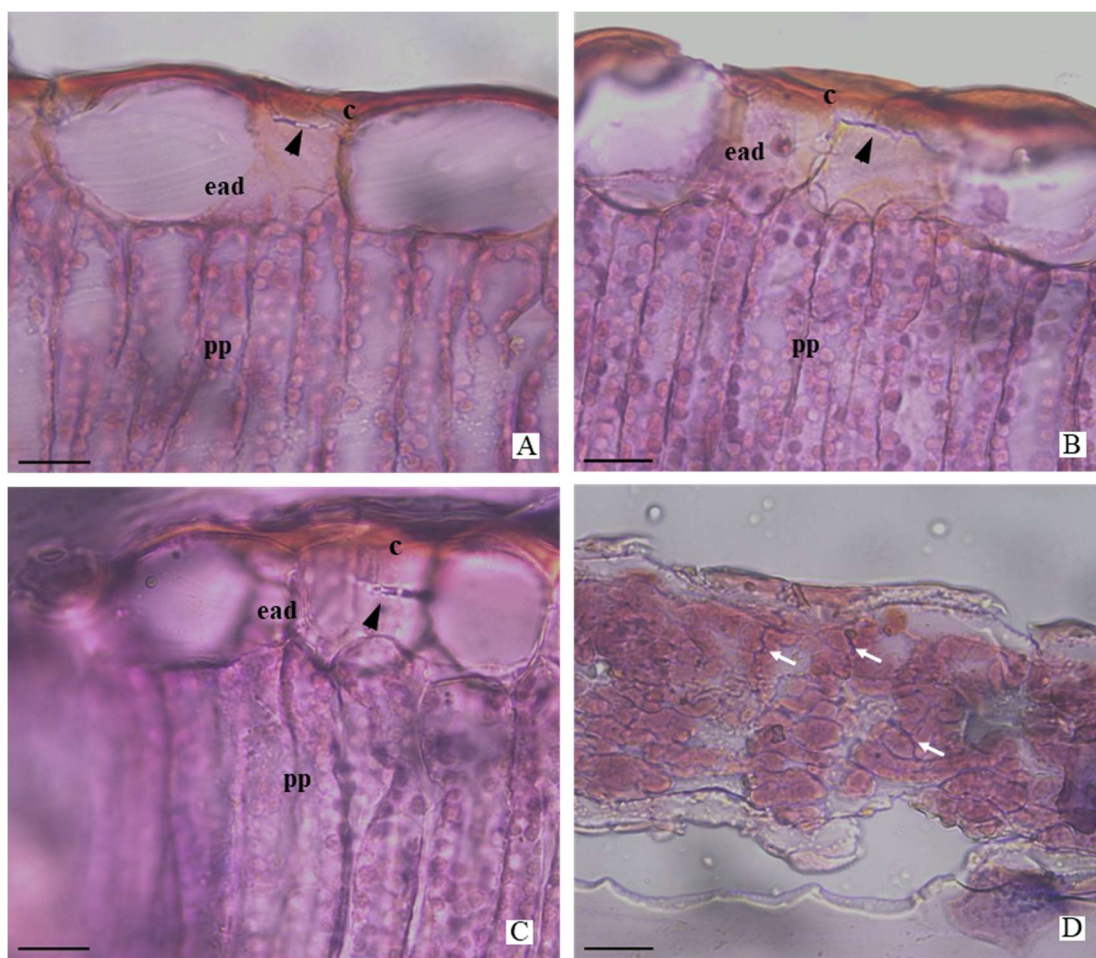
Figura 7. Micrografias ópticas das folhas da Variedade G65 inoculadas com o isolado ICT12: (A) hifas intracelulares epidérmicas com 30 hai (ponta de seta); (B) hifas colonizando o mesofilo (ponta de seta) e degradação da epiderme (asterisco preto) com 48 hai; (C) hifas intercelulares com 72 hai (seta branca); (D e E) presença de amplos espaços intercelulares (seta preta), cloroplasto agrupado (asterisco branco), observa-se a área de transição da infecção com 148 hai; (c) cutícula; (ead) epiderme adaxial; (eab) epiderme abaxial; (pp) parênquima paliçádico; (pl) parênquima lacunoso (x) xilema; barra: 100 µm.



Fonte: Autor, 2026

As análises histopatológicas, na variedade PLBP4 foram observadas hifas colonizando as células epidérmicas com 96 hai (Figura 7A, B e C), após 120 hai, hifas colonizaram o espaço intercelular dos parênquimas paliçádico e lacunoso. Porém sem evidências de degradação celular ao longo dos tempos de coleta (Figura 7D).

Figura 8. Micrografias ópticas das folhas da Variedade PLBP4 inoculadas com o isolado ICT12: (A-C) hifas colonizando as células epidérmicas (ponta de seta) observadas a partir de 96 hai; (D) hifas intercelulares (seta branca); (c) cutícula; (ead) epiderme adaxial; (pp) parênquima paliçádico com 120 hai; barra: 100 µm.

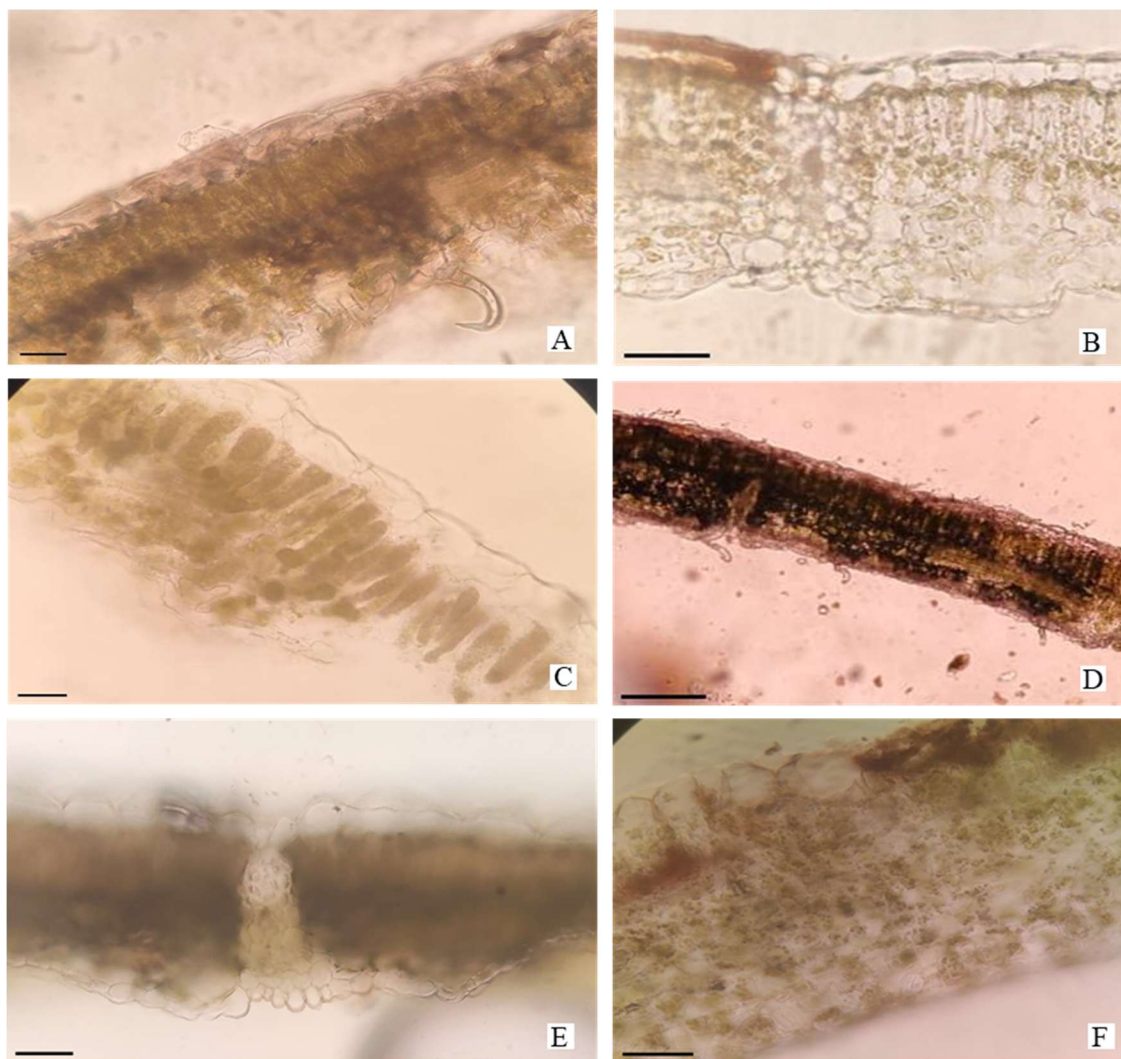


Fonte: Autor, 2026

As análises histoquímicas foram realizadas para verificar a presença ou alteração da presença de compostos fenólicos, flavonóides, terpenóides, alcalóides, lipídios e carboidrato. De todos os testes histoquímicos realizados detectou-se apenas a presença de compostos fenólicos. A produção de compostos fenólicos após a infecção com *C. truncatum* foi observado nas três

variedades inoculadas com o isolado ICT12. Na variedade OVIC, observou-se compostos fenólicos com 6 hai, seguida por redução progressiva ao longo do processo infeccioso (Figura 8A e B). Na variedade G65, os compostos fenólicos foram detectados a partir de 9 hai e se mantiveram durante todo o período de coleta (Figura 8B e C). Já na variedade PLBP4, a detecção ocorreu a partir de 4 hai, com diminuição gradual nas avaliações subsequentes (Figura 8E e F).

Figura 9. Detecção histoquímica de compostos fenólicos nas três variedades de *Phaseolus lunatus* inoculadas com o isolado ICT12 de *Colletotrichum truncatum*: (A e B) variedade OVIC, observou-se compostos fenólicos com 6 hai, seguida por redução progressiva; (C e D) variedade G65, compostos fenólicos foram detectados a partir de 9 hai; (E e F) variedade PLBP4, compostos fenólicos a partir de 4 hai, com diminuição gradual nas avaliações subsequentes; barra: 100 µm.

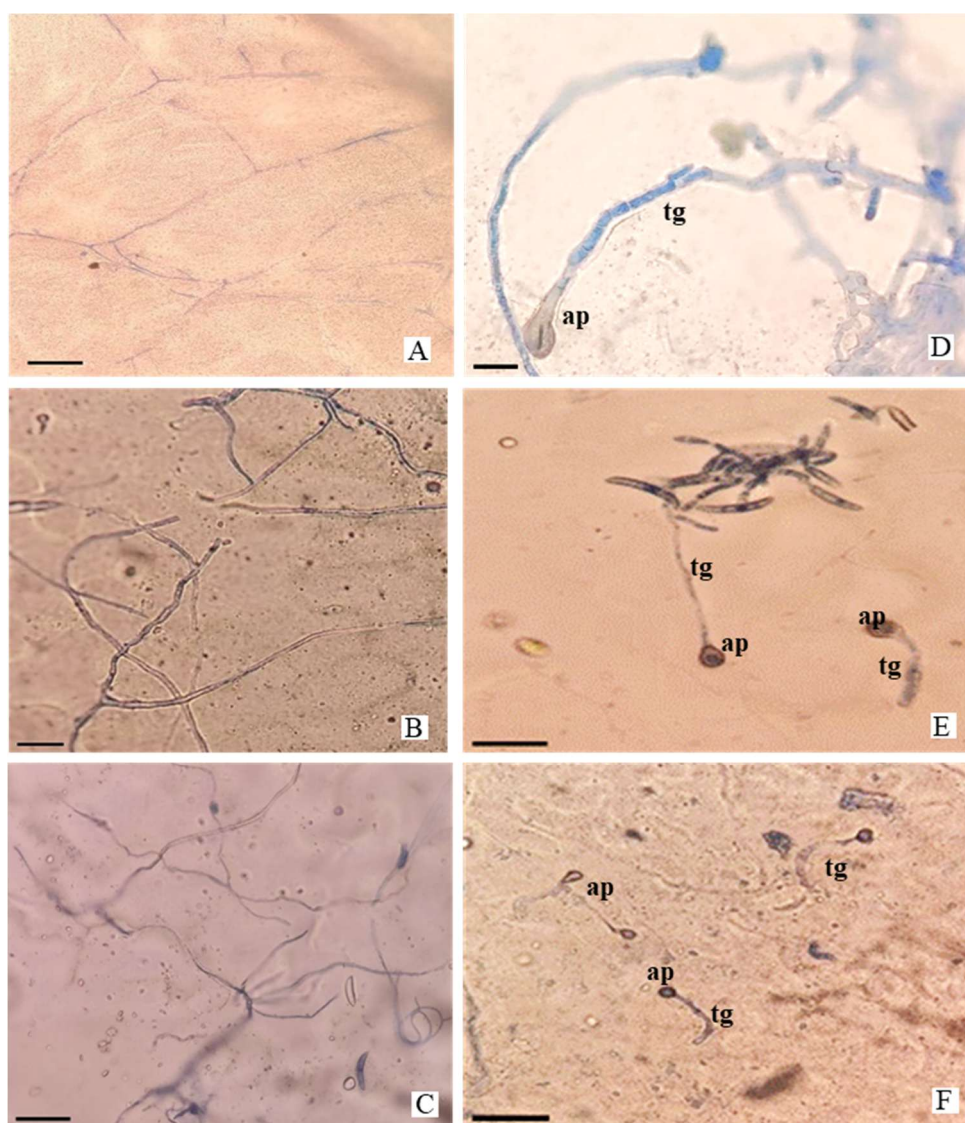


Fonte: Autor, 2026

4.3. Histopatologia dos tecidos de *P. lunatus* inoculados com isolado ICT16 de *C. truncatum*.

A germinação dos conídios ocorreu às 6 hai nas variedades PLBP4 (Figura 2A) e G65 (Figura 2B), enquanto na variedade OVIC foi observada às 4 hai (Figura 2C). A formação de apressórios apresentou comportamento semelhante entre as variedades, sendo registrada às 9 hai em todos os casos (Figura 2D, E e F).

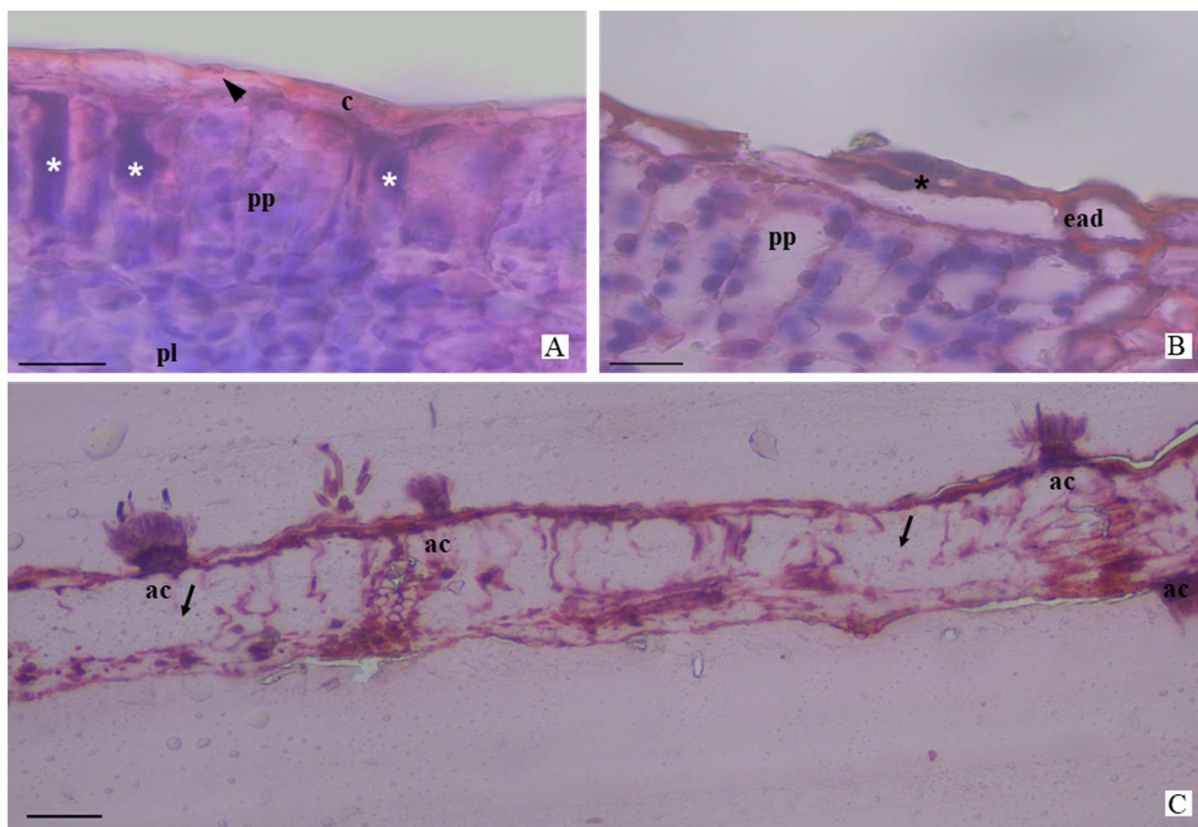
Figura 10. Germinação de conídios e formação de apressórios do isolado ICT16 em folhas das variedades PLBP4: Variedades OVIC (A e D); variedade G65 (B e E) e variedade PLBP4(C e F); (ap) opressório; (tg) tudo germinativo; barra: 6 μ m.



Fonte: Autor, 2026

As análises histopatológicas evidenciaram diferenças na progressão da infecção entre as variedades, porém o isolado ICT16 colonizou as respectivas variedades de forma semelhante. Na variedade OVIC, a infecção iniciou-se com a presença de hifas subcuticulares aos 24 hai, com cloroplastos em massas no parênquima paliçádico (Figura 10A). Aos 96 hai, observou-se a formação de massas compactas de hifas, que deram origem aos acérvulos nos períodos subsequentes (Figura 10B). Com 120 hai, os acérvulos encontravam-se plenamente desenvolvidos, associados ao rompimento da cutícula e à degradação generalizada dos tecidos foliares (Figura 10C).

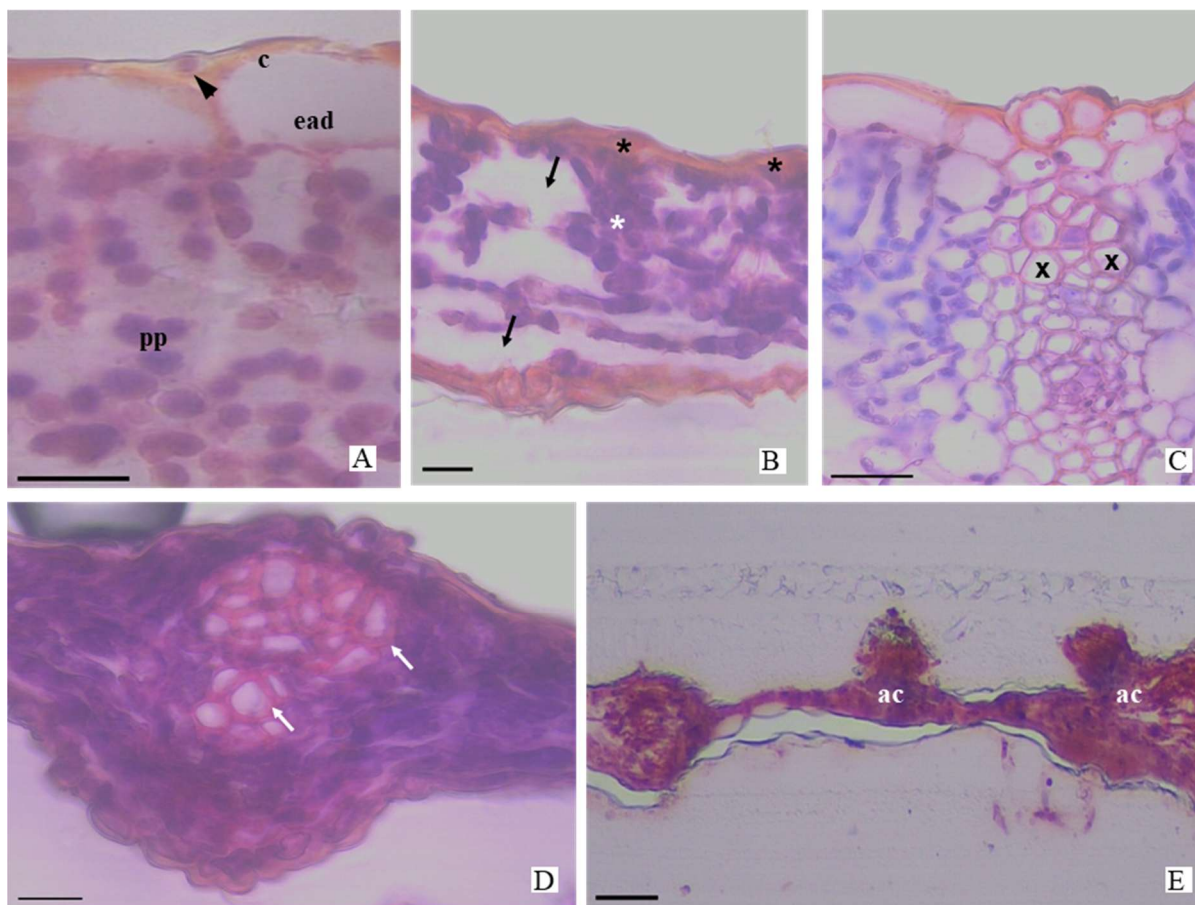
Figura 11. Micrografias ópticas das folhas da Variedade OVIC inoculadas com o isolado ICT16: (A) hifas subcuticulares intramurais (ponta de seta), e massas de cloroplastos (asterisco branco) observados a parti de 24 hai; (B) massa compacta de hifas (asterisco preto) que deu origem aos acérvulos (ac); (C) presença de amplos espaços intercelulares (seta preta) e acérvulos observados a partir de 120 hai; (c) cutícula; (ead) epiderme adaxial; (pp) parênquima paliçádico; (pp) parênquima lacunoso; barra: 100 µm.



Fonte: Autor, 2026

Na variedade G65, os primeiros sinais do patógeno foram registrados as 24 hai com a presença de hifas subcuticulares (Figura 11A). Com 48 hai, verificou-se degradação da epiderme e do mesófilo, acompanhada pela condensação dos cloroplastos em massas (Figura 11B). A partir de 72 hai, a degradação tecidual intensificou-se, com espessamento dos elementos de vaso nos feixes vasculares (Figura 11C) quando comparado as coletas anteriores, e aos 96 hai foi observada a formação de acérvulos associados à degradação extensa dos tecidos foliares (Figura 11D).

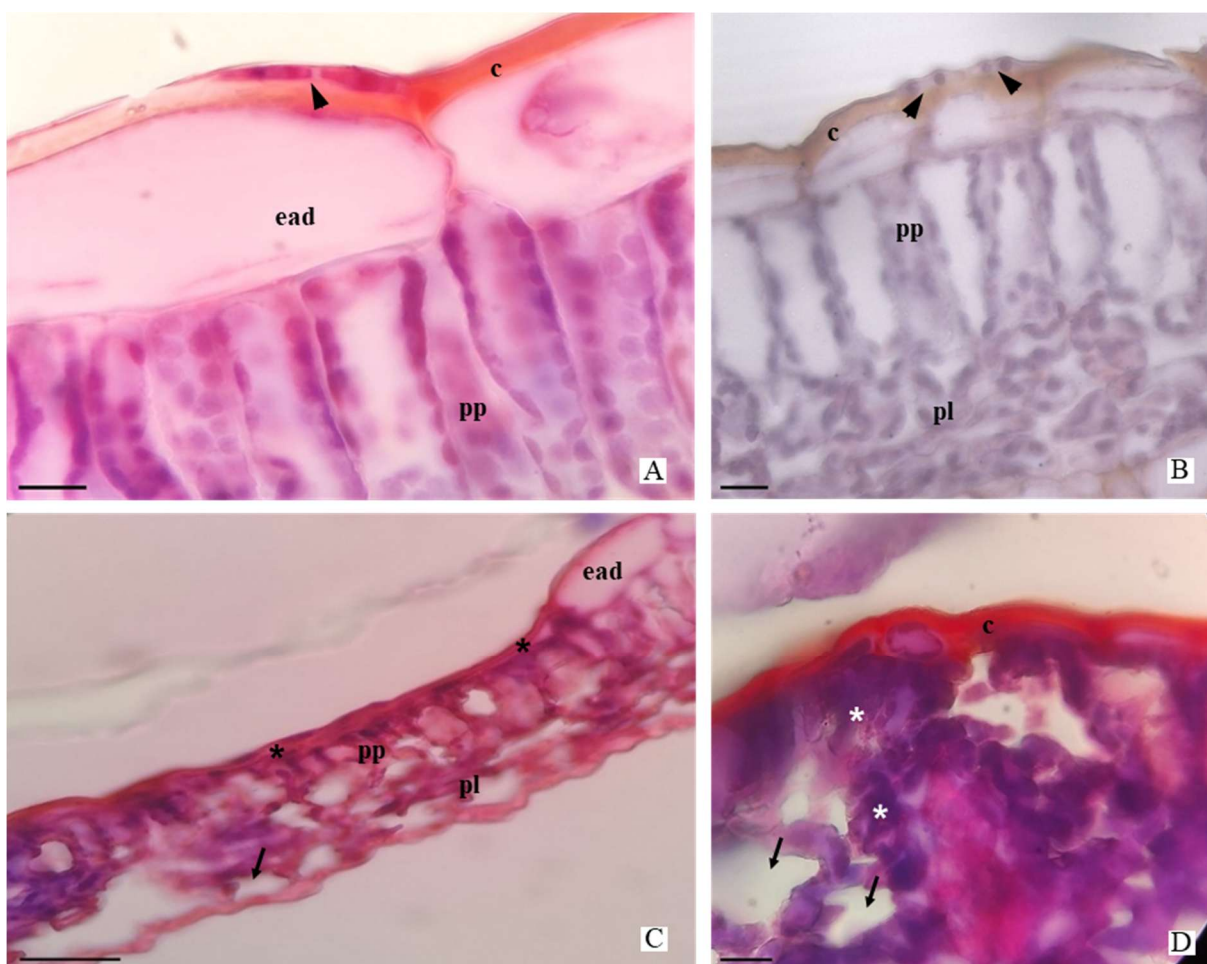
Figura 12. Micrografias ópticas das folhas da Variedade G65 inoculadas com o isolado ICT16: (A) hifas subcuticulares intramurais (ponta de seta) observadas a parti de 24 hai; (B) degradação das células epidérmica (asterisco preto), presença de amplos espaços intercelulares (seta preta), cloroplasto agrupado nos tecidos degradados (asterisco branco); (C) espessura da parede dos elementos de vaso em coletas anteriores a 72 hai (D) espessamento dos elementos de vaso (seta branca) com 72 hai; (E) formação de acérvulos (ac) 96 hai; (c) cutícula; (ead) epiderme adaxial; (pp) parênquima paliçádico; (x) xilema barra: 100 µm.



Fonte: Autor, 2026

Na variedade PLBP4, hifas subcuticulares foram detectadas a partir de 18 hai (Figura 12A e B), e as 96 hai observou-se degeneração das células epidérmicas e do mesofilo, acompanhada pela condensação dos cloroplastos em massas coincidindo com o aparecimento das lesões visíveis (Figura 12C e D).

Figura 13. Micrografias ópticas das folhas da variedade PLBP4 inoculadas com o isolado ICT16: (A e B) hifas subcuticulares intramurais (ponta de seta) observadas a parti de 18 hai; (C e D) degradação das células epidérmica (asterisco preto), presença de amplos espaços intercelulares (seta preta) indicando degradação das paredes celulares e condensação dos cloroplastos em massas (asterisco branco) observado 96 hai; (c) cutícula; (ead) epiderme adaxial; (pp) parênquima paliçádico; (pl) parênquima lacunoso; barra: 100 µm.

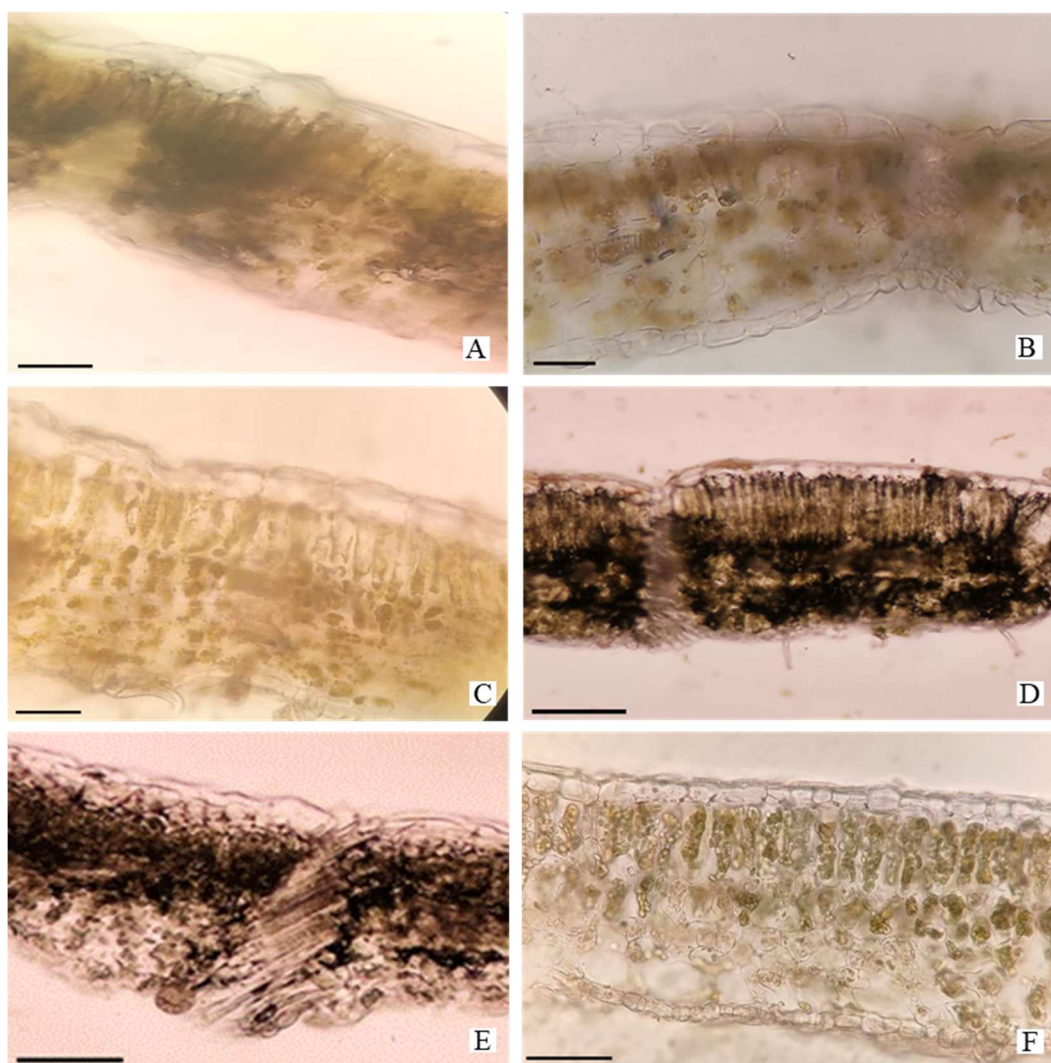


Fonte: Autor, 2026

No teste histoquímicos, os tecidos colonizados pelo isolado ICT16 revelaram a presença de compostos fenólicos nas três variedades. Seguindo o padrão onde na variedade OVIC,

observou-se compostos fenólicos com 6 hai, seguida por redução progressiva ao longo do processo infeccioso (Figura 13A e B). Na variedade G65, os compostos fenólicos foram detectados a partir de 9 hai e se mantiveram durante todo o período de coleta (Figura 13B e C). Já na variedade PLBP4, a detecção ocorreu a partir de 4 hai, com diminuição gradual nas avaliações subsequentes (Figura 13E e F).

Figura 14. Detecção histoquímica de compostos fenólicos nas três variedades de *Phaseolus lunatus* inoculadas com o isolado ICT12 de *Colletotrichum truncatum*: (A e B) variedade OVIC, observou-se compostos fenólicos com 6 hai, seguida por redução progressiva; (C e D) variedade G65, compostos fenólicos foram detectados a partir de 9 hai; (E e F) variedade PLBP4, compostos fenólicos a partir de 4 hai, com diminuição gradual nas avaliações subsequentes, barra: 100 µm.



Fonte: Autor, 2026

5. DISCUSSÃO

A interação entre espécies do gênero *Colletotrichum* e seus hospedeiros vegetais é caracterizada por elevada complexidade, envolvendo variações nos eventos iniciais de infecção, nas estratégias de colonização e na ativação das respostas de defesa da planta. A compreensão dos processos de patogênese, especialmente em nível histológico e temporal, é fundamental para elucidar os mecanismos que determinam a severidade da doença e o sucesso do patógeno em diferentes genótipos do hospedeiro. As avaliações histológicas do comportamento infeccioso de dois isolados de *Colletotrichum* em distintas variedades contribuíram para uma visão da dinâmica patógeno–hospedeiro, evidenciando isolados com comportamentos necrotróficos e hemibiotróficos. Identificando variedades com resposta diferencial de acordo com estilo de vida do isolado. Evidenciando uma complexa interação e desafio para o melhoramento genético para resistência a antracnose em *P. lunatus*.

De modo geral os padrões temporais da germinação dos esporos e consequentemente a emissão do tubo germinativo apresentado por ambos os isolados nas variedades analisadas, segue o que é comumente observado em outras espécies do gênero *Colletotrichum*. Os esporos germinaram nas primeiras horas após a inoculação antes da diferenciação dos apressórios. (Diéguez-Uribeondo et al., 2005; Rojo-Báez et al., 2016). Indicando que a composição da cutícula da folha das variedades não tem efeito no processo de germinação do esporo e formação do tubo germinativo.

No entanto, os isolados apresentaram diferenças na cronologia de formação dos apressórios. O isolado ICT12 exibiu maior variabilidade temporal associada a maior severidade da antracnose. Nas variedades quando a germinação aconteceu mais cedo os sintomas foram mais acentuados. Em contraste o isolado ICT16 demonstrou maior regularidade, sem variações no tempo de formação dessas estruturas mesmo quando inoculado nas deferentes variedades. Estudos com outras espécies de *Colletotrichum* atribuem essas diferenças no tempo de formação dos apressórios à variabilidade genética intrínseca dos isolados (Chethana et al., 2021), à influência de sinais químicos do hospedeiro, como o etileno (Ren et al., 2022), além de fatores externos, como umidade e temperatura, que modulam diretamente o tempo requerido para essa diferenciação (Wang & Kerns, 2017). Esses estudos também estabelecem uma relação direta entre a rapidez de formação dos apressórios e o aumento da severidade da doença.

O isolado ICT12 apresentou estratégia de colonização diferente quando comparado com o ICT16. Com estratégia de colonização hemibiotrófico, o isolado ICT 12 inicialmente formou hifas primárias delgadas que colonizaram o lúmen das células epidérmicas sem causar a lise celular, até este ponto as folhas de todas as variedades permaneceram assintomáticas. Estratégias de colonização inicial semelhante já foram descritas para *C. truncatum* causando infecção em lentilha (*Lens culinaris*), fava (*Vicia faba*) (Latunde-Dada & Lucas, 2007) e em ervilha (*Pisum sativum*) (Rojo-Báez et al., 2016).

Embora o isolado ICT12 tenha apresentado padrão inicial de colonização semelhante entre as variedades analisadas, a progressão da infecção diferiu entre elas. Na variedade PLBP4, o patógeno permaneceu restrito ao espaço intercelular do mesófilo, sem induzir degradação tecidual ou evidências histológicas de transição para a fase necrótica; ainda assim, aos 10 dias após a inoculação, observaram-se pequenas lesões necróticas. Nas demais variedades (OVIC e G65), a colonização evoluiu para a fase necrotrófica, inicialmente caracterizada pela degradação das células epidérmicas e, posteriormente, do mesófilo foliar, associada à formação de hifas secundárias mais espessas. A transição para a fase necrótica, em outros patossistemas envolvendo *C. truncatum*, tem sido relacionada ao desenvolvimento dessas hifas secundárias, que diferem morfológicamente das hifas primárias e são responsáveis pela degradação dos tecidos do hospedeiro (Bhadauria et al., 2011).

O isolado ICT16 apresentou estratégia de colonização marcada pela presença inicial de hifas subcuticulares que causam a degradação das células epidérmicas e posteriormente do mesófilo foliar, sendo esse o processo infeccioso observado nas três variedades analisadas. A colonização subcuticular apresentada por esse isolado pode ser observado em outros patossistemas envolvendo espécies do gênero *Colletotrichum*. Na interação *C. acutatum* causando antracnose no morango (*Fragaria ananassa*), o patógeno invade a cutícula apresentando uma fase biotrófica. No entanto, a estratégia foi descrita como necrotrofia subcuticular-intramural. Sendo considerada uma variação do processo necrotrófico, pois o patógeno invade a cutícula e causa a morte das células sem que ocorra penetração celular (Cury et al., 2002).

O isolado ICT16 completou seu ciclo de vida em duas das variedades G65 e OVIC, evidenciado pela formação de acérvulos contendo conídios viáveis, os quais funcionam como fonte de inóculo para novas infecções (Ranathunge et al., 2012). Em estágios avançados da infecção,

observou-se a produção de acérvulos em ambas as faces da folha, mesmo tendo a inoculação sido realizada exclusivamente na face adaxial. Esse resultado indica a ampla capacidade de colonização do isolado nessas variedades, com progressão tecidual suficiente para atravessar o limbo foliar e estabelecer estruturas reprodutivas em múltiplas regiões do órgão.

Um aspecto relevante observado durante o avanço da infecção por ambos os isolados nas variedades avaliadas foi a aparente concentração de cloroplastos em regiões adjacentes ao sítio de infecção, associada à degradação progressiva dos tecidos foliares. Em outros patossistemas, como na interação entre *Phytophthora infestans* e *Nicotiana benthamiana*, esse reposicionamento tem sido interpretado como uma resposta ativa da planta, envolvendo o acúmulo de cloroplastos ao redor das estruturas de penetração do patógeno, possivelmente relacionado à produção localizada de espécies reativas de oxigênio (ROS) e à sinalização de defesa (Savage et al., 2021). No entanto, nos resultados aqui obtidos, não se pode descartar que a proximidade entre os cloroplastos seja, ao menos em parte, consequência da degradação celular, com perda de turgidez e desorganização estrutural dos tecidos. Essa interpretação é reforçada pelo fato de que o aparente agrupamento ocorre concomitantemente ao início da degradação do mesófilo foliar, sugerindo que o fenômeno esteja mais associado ao colapso tecidual induzido pelo patógeno do que a um reposicionamento ativo relacionado à defesa.

O espessamento das paredes dos vasos do xilema observado na variedade G65, a partir de 72 hai após inoculação com o isolado ICT16, pode ser interpretado como uma resposta estrutural de defesa do hospedeiro. Embora não tenha sido constatada colonização direta do xilema por *C. truncatum*, o reforço das paredes vasculares está associado à deposição de lignina, um polímero fenólico sintetizada e depositada pelas células do parênquima xilemático nas paredes dos elementos de vaso. Esse processo resulta no espessamento das paredes e constitui um mecanismo amplamente descrito na contenção de patógenos. O reforço da parede atua principalmente na limitação do movimento lateral do patógeno e na proteção das células adjacentes ao tecido vascular. Esse fenômeno pode ocorrer tanto em plantas suscetíveis quanto resistentes; no entanto, em genótipos suscetíveis tende a ocorrer de forma mais tardia, enquanto em plantas resistentes a deposição de lignina ocorre mais precocemente. (Kashyap et al. 2021).

A ausência de evidências histológicas de hifas nos vasos xilemáticos de *P. lunatus* durante o processo infeccioso por *C. truncatum* sugere que o espessamento observado na variedade G65

não está diretamente associado à tentativa de bloquear a colonização vascular. No entanto, considerando as limitações metodológicas, não se pode descartar completamente a ocorrência da colonização dos elementos de vaso. Nesse contexto, o espessamento pode refletir uma resposta sistêmica induzida pela progressão da infecção nos tecidos foliares. O reforço estrutural pode estar relacionado à ativação generalizada de vias defensivas, especialmente aquelas associadas ao metabolismo de compostos fenólicos, interpretação reforçada pela presença contínua desses compostos na variedade G65 a partir de 9 horas após a inoculação.

A acumulação de compostos fenólicos observada nos tecidos das três variedades nas primeiras horas após a inoculação de ambos os isolados constituem um indicativo importante da ativação das respostas de defesa do hospedeiro. Os compostos do metabolismo secundário constituem um dos principais mecanismos de defesa das plantas frente a estresses bióticos e abióticos. Entre esses compostos, os fenólicos representam o principal grupo envolvido na defesa contra patógenos. Os compostos fenólicos atuam tanto por sua atividade antimicrobiana, tornando os tecidos vegetais um ambiente desfavorável à sobrevivência do patógeno, quanto pela indução da síntese de lignina e polímeros lignificados, que aumentam a rigidez e a resistência mecânica da parede celular, dificultando a colonização dos tecidos (Khanday et al., 2024).

Nas variedades PLBP4 e OVIC, observou-se redução progressiva dos compostos fenólicos ao longo do processo infectivo, enquanto na variedade G65 esses compostos permaneceram detectáveis durante todo o período avaliado a partir de 9 hai. Embora a presença de fenólicos não tenha sido suficiente para impedir o avanço da infecção de nenhum dos isolados de *C. truncatum* (ICT12 e ICT16). A presença de compostos fenólicos aconteceu mais precocemente nas variedades PLBP4 e OVIC inoculadas com o isolado ICT16. Os compostos provavelmente contribuíram para o retardamento dos estágios iniciais da colonização fúngica, uma vez que os primeiros sintomas visuais nessas variedades foram observados apenas a partir de 96 hai.

Em contraste, na variedade G65, na qual os sintomas evidentes surgiram já com 48 hai, a manutenção dos compostos fenólicos ao longo de todas as coletas não se refletiu em maior contenção do patógeno. Esse padrão sugere que, nesse genótipo, os fenólicos detectados podem não estar atuando predominantemente como barreiras químicas ativas, mas sim associados a processos de transformação metabólica subsequentes à necrose tecidual. Fenômeno semelhante foi descrito no patossistema *Colletotrichum capsici* e *Capsicum annuum*. No patossistema relatado, a

redução ou manutenção dos teores de fenólicos após a inoculação foi relacionada à polimerização oxidativa desses compostos em melanina em tecidos necróticos ou à sua incorporação à lignina durante a degradação celular, refletindo um balanço dinâmico entre a resposta defensiva inicial da planta e a capacidade do patógeno de modular ou redirecionar o metabolismo fenólico ao longo da infecção (Anand et al., 2009).

6. CONCLUSÃO

A interação entre *C. truncatum* e *P. lunatus* é marcada por elevada complexidade, dependente da combinação entre isolado e genótipo do hospedeiro, refletindo-se em diferenças nos eventos iniciais de infecção, nas estratégias de colonização e na ativação das respostas de defesa. Os isolados ICT12 e ICT16 apresentaram padrões infecciosos distintos, respectivamente hemibiotrófico e necrotrófico subcuticular, com variações na dinâmica de colonização entre as variedades. As respostas histoquímicas indicaram ativação precoce de mecanismos de defesa, porém com eficiência variável, evidenciando que sua presença não se traduz necessariamente em resistência efetiva. Dessa forma, a progressão da antracnose não é determinada isoladamente pela agressividade do isolado ou pela resistência do hospedeiro, mas pela interação entre modificações estruturais, processos bioquímicos e a plasticidade infecciosa do patógeno, que regulam o estabelecimento e a progressão da infecção.

7. REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A. Inoculação de fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa, 2007. p.23-50.
- AMORIN, L.; REZENDE, J. ALBERTO MARQUES; BERGAMIN FILHO, ARMANDO. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. São Paulo: Agronômica ceres, 2018. v.1
- ANAND, T. et al. Defence responses of chilli fruits to *Colletotrichum capsici* and *Alternaria alternata*. **Biologia plantarum**, v. 53, n. 3, p. 553–559, 1 set. 2009.
- ANDRUS, C. F.; MOORE, W. D. *Colletotrichum truncatum* (Schw.), n. comb., on garden and Lima beans. **Phytopathology**, v. 25, 3 jun. 1935.
- ANJUM, R. et al. Histopathological changes in response to *Ceratocystis manginecans* in mango (*Mangifera indica*). **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 53, n. 01, p. 195–199, 1 abr. 2016.
- ASHIQ HUSSAIN KHANDAY et al. **Role of Phenolic Compounds in Disease Resistance to Plants**. In: Lone, R., Khan, S., Mohammed Al-Sadi, A. (eds) Plant Phenolics in Biotic Stress Management. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-99-3334-1_19
- AZANI, N. et al. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny – The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). **Taxon**, v. 66, n. 1, p. 44–77, 22 fev. 2017.
- AZEVEDO, J. N. de; FRANCO, L. J. D.; ARAÚJO, R. O. C. Composição química de sete variedades de feijão-fava. Teresina, PI: **EMBRAPA MEIO-NORTE**, 2003. 4p. (EMBRAPA MEIO-NORTE. Comunicado Técnico, 152).
- BARBIERI, R. L.; CARVALHO, F. I. F. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, Revista. Brasileira de Agrociência, Pelotas, v. 7, p. 79-83, 2001.
- BEYRA, A.; ARTILES, G. R. **Revisión taxonômica de los gêneros *Phaseolus* y *Vigna***.
- BHADAURIA, V. et al. Cataloging proteins putatively secreted during the biotrophy-necrotrophy transition of the anthracnose pathogen *Colletotrichum truncatum*. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 10, p. 1457–1459, out. 2011.

- CARMO, M. D. S. D., et al. Avaliação de acessos de feijão-fava, para resistência a *Colletotrichum truncatum*, em condições de folhas destacadas e campo. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 4, p. 292–297, dez. 2015.
- CARVALHO, E. M. S.; CENTURION, M. A. P. C.; CARVALHO, P. R. S. **A Cultura do feijão-fava no meio-norte do brasil**. 2010. p. 191-203
- CAVALCANTE, S. et al. Diversity, Prevalence, and Virulence of *Colletotrichum* Species Associated with Lima Bean in Brazil. **Plant disease**, v. 103, n. 8, p. 1961–1966, 1 ago. 2019.
- CHETHANA, K. W. T. et al. Diversity and Function of Appressoria. **Pathogens**, v. 10, n. 6, p. 746, 12 jun. 2021.
- CORTELAZZO, A. L.; VIDAL, B. C. Soybean seed proteins: detection in situ and mobilization during germination. **Revista Brasileira de Botanica**, v. 14, n. 1, p. 27–33, 1991.
- CURRY, K. J. et al. Strawberry Anthracnose: Histopathology of *Colletotrichum acutatum* and *C. fragariae*. **Phytopathology**, v. 92, n. 10, p. 1055–1063, out. 2002.
- DAI, G. H. et al. Histochemical studies on the interaction between three species of grapevine, *Vitis vinifera*, *V. rupestris* and *V. rotundifolia* and the downy mildew fungus, *Plasmopara viticola*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 46, n. 3, p. 177–188, mar. 1995.
- DAMM, U. et al. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 45–87, 1 jan. 2009.
- DAVID R.; CARDE J. P., Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du pin maritime au moyen du reactif Nadi, **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences Paris**, Vol. 258, 1964, pp. 1338-1340.
- DE SILVA, D. D. et al. Life styles of *Colletotrichum* species and implications for plant biosecurity. **Fungal Biology Reviews**, v. 31, n. 3, p. 155–168, 1 jun. 2017.
- DIÉGUEZ-URIBEONDO, J. et al. Subcuticular-Intracellular Hemibiotrophic and Intercellular Necrotrophic Development of *Colletotrichum acutatum* on Almond. **Phytopathology**, v. 95, n. 7, p. 751–758, 1 jul. 2005.
- ENAYRA SILVA SOUSA et al. *Colletotrichum* species causing anthracnose on lima bean in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 1, p. 78–84, 1 fev. 2018.
- FERNANDES, C. F. et al. **Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos**. 1. ed. [s.l.] Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2009.

FIGUEIREDO A. C., et al., **Histoquímica e Citoquímica em Plantas: Princípios e Protocolos**, Lisboa, 1ª Edição. Edição Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal, jan. 2007.

FIGUEIRA, E. P. P. et al. Histochemical changes induced by *Trichoderma* spp. and potassium phosphite in common bean (*Phaseolus vulgaris*) in response to the attack by *Colletotrichum lindemuthianum*. **Semina-ciencias agrarias**, v. 41, n. 3, p. 811–811, 7 abr. 2020.

GARCIA, T. et al. Comprehensive genomic resources related to domestication and crop improvement traits in Lima bean. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 702, 29 jan. 2021.

GLAZEBROOK, J. Contrasting Mechanisms of Defense Against Biotrophic and Necrotrophic Pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 43, n. 1, p. 205–227, set. 2005.

GOMES R. S. S, NASCIMENTO L. C. Induction of resistance to *Colletotrichum truncatum* in lima bean. **Arquivos do Instituto Biológico** 85:1-7, 2018.

GOMES, R. S. S. et al. Epidemiological aspects of lima beans anthracnose in different varieties. **European journal of plant pathology**, v. 165, n. 4, p. 701–713, 19 jan. 2023.

GOMES, R. S. S. et al. Reactions of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) accessions to *Colletotrichum truncatum*. **Revista Caatinga**, v. 35, n. 4, p. 809–817, out. 2022.

HENRY, R. J. **Plant Resources for Food, Fuel and Conservation**. London, UK: Earthscan. 200 p., 2010.

IBGE. **Pesquisa de Produção Agrícola Municipal**. 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/fava/br> Acesso em: 4 de jun. 2024.

JAYAWARDENA, R. S.; HYDE, K. D.; DE FARIAS, A. R. G.; BHUNJUN, C. S.; FERDINANDEZ, H. S.; MANAMGODA, D. S.; THINES, M. What is a species in fungal plant pathogens? **Fungal Diversity**, p. 1-28, 2021.

JEFERSON ARAÚJO SILVA et al. Reação de genótipos de feijão-fava a *Sclerotium rolfsii*. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 01, p. 98–101, 31 mar. 2014.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. MacGrawHill, New YorkNew York, 1940. p. 523

JONES, D. B. et al. The proteins of the lima bean, *Phaseolus lunatus*. **The Journal of biological chemistry**, v. 53, n. 2, p. 231–240, 1 ago. 1922.

KAHLON, T. S.; SMITH, G. E.; SHAO, Q. In vitro binding of bile acids by kidney bean (*Phaseolus vulgaris*), black gram (*Vigna mungo*), bengal gram (*Cicer arietinum*) and moth bean (*Phaseolus aconitifolius*). **Food Chemistry**, v. 90, n. 1-2, p. 241–246, mar. 2005.

KEE, Y. J.; ZAKARIA, L.; MOHD, M. H. Identification, pathogenicity and histopathology of *Colletotrichum sansevieriae* causing anthracnose of *Sansevieria trifasciata* in Malaysia. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, n. 3, p. 626–636, 30 mar. 2020.

KIMATI, H., AMORIM, L., REZENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A. & CAMARGO, L.E.A. (EDS.) **Manual de fitopatologia. Vol. 2. Doenças das plantas cultivadas**. 4^a. ed. São Paulo. CERES. 2005.

KIRK, P. M.; ANDRIANOVA, T. V.; AL, E. **Dictionary of the fungi**. Oxon: Cabi, 2008.

KUDIRAT TITIOPE SEIDU et al. Amino acid composition, mineral contents and protein solubility of some lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) seeds coat. **Food Research International**, v. 73, p. 130–134, 1 jul. 2015.

KUMAR, S.; STECHER, G.; SULESKI, M.; HEDGES, S. B. TimeTree: a resource for timelines, timetrees, and divergence times. **Molecular biology and evolution**, v. 34, n. 7, p. 1812-1819, 2017.

LARBAT, R. et al. Phenolic characterization and variability in leaves, stems and roots of Micro-Tom and patio tomatoes, in response to nitrogen limitation. **Plant Science**, v. 224, p. 62–73, jul. 2014.

LATUNDE-DADA, A. O.; LUCAS, J. A. Localized hemibiotrophy in *Colletotrichum*: cytological and molecular taxonomic similarities among *C. destructivum*, *C. linicola* and *C. truncatum*. **Plant Pathology**, v. 56, n. 3, p. 437–447, 12 mar. 2007.

LONG, R.; TEMPLES, S.; MEYER, R.; SCHWANKL, L.; ODFREY, L.; CANEVARI, M.; ROBERTS, P. Lima Bean Production in California. **University of California**, ANR, n. 8505, p. 25, 2014.

LUSTOSA-SILVA et al. 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, 28 maio 2022.

MACEDO, N. A. **Manual de técnica em histologia vegetal** 1997. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 1997. p. 96

MACKIE, W. W. Origin, dispersal, and variability of the lima bean, *Phaseolus lunatus*. **Hilgardia**, v. 15, n. 1, p. 1–29, mar. 1943.

- MARQUES, J. P. R. et al. Histopathology of postbloom fruit drop caused by *Colletotrichum acutatum* in citrus flowers. **European Journal of Plant Pathology**, v. 135, n. 4, p. 783–790, 14 nov. 2013.
- MARQUES, J. P. R.; SOARES, M. K. M.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. New staining method for fungal-infected plant tissues. **Turkish journal of botany**, v. 37, n. 4, 2013.
- MARQUES, J. P. R.; SOARES, M. **Manual de Técnicas Aplicadas à Histopatologia Vegetal**. 1. ed. piracicaba: Fealq, 2021.
- MARTÍNEZ-CASTILLO, J.; COLUNGA-GARCÍAMARÍN, P.; ZIZUMBO-VILLARREAL, D. Genetic erosion and in situ conservation of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces in its Mesoamerican diversity center. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 55, n. 7, p. 1065–1077, 1 abr. 2008.
- MAYEK-PÉREZ, N. et al. Water relations, histopathology and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during pathogenesis of *Macrophomina phaseolina* under drought stress. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 60, n. 4, p. 185–195, abr. 2002.
- MONDOLOT, L. et al. Evolution in Caffeoylquinic Acid Content and Histolocalization During *Coffea canephora* Leaf Development. **Annals of Botany**, v. 98, n. 1, p. 33–40, 4 maio 2006.
- MOSES, O.; OLAWUNI, I.; JO, I. The proximate composition and functional properties of full-fat flour and protein isolate of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). **Scientific Reports**, v.1, n.7, p.1-5, 2012.
- MOTA, J. M. D. et al. Transmission of *Colletotrichum truncatum* and *Macrophomina phaseolina* by lima bean seeds. **Summa phytopathologica**, v. 45, n. 1, p. 33–37, 1 mar. 2019.
- NASCIMENTO, A. D. et al. Severidade da antracnose do feijão-fava afetada por doses de cálcio e fontes de silício. **Ciencia agricola/Ciência Agrícola**, v. 15, n. 2, p. 61–61, 28 dez. 2017a.
- NASCIMENTO, M. G. R. et al. Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) seeds exposed to different salt concentrations and temperatures. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, Mossoró, p. 738–747, 2017b.
- NKHATA, W. et al. Population structure and genetic diversity analyses of common bean germplasm collections of East and Southern Africa using morphological traits and high-density SNP markers. **PLOS ONE**, v. 15, n. 12, p. e0243238, 18 dez. 2020.
- O’CONNELL, R. J. et al. Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. **Nature Genetics**, v. 44, n. 9, p. 1060–1065, 12 ago. 2012.

ORTIZ, E. et al. Histopathological features of infections caused by *Fusarium oxysporum* and *F. solani* in purple passionfruit plants (*Passiflora edulis* Sims). **Summa phytopathologica**, v. 40, n. 2, p. 134–140, 1 jun. 2014.

PANDEY, A. et al. Histopathological Study of Infection Process of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz and Sacc. on *Mangifera indica* L. **Plant Pathology Journal**, v. 11, n. 1, p. 18–24, 2 jul. 2012.

PAULO, J.; SOARES, M. **Manual de Técnicas Aplicadas à Histopatologia Vegetal**. [s.l.] Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), 2021.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry: Theoretical and Applied. Volume 1**. Little, Brown & Co: Boston, 1968. v. 1p. 768.

Produção Agropecuária | IBGE. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/fava/br>>. Acesso em: 25 maio. 2025.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os reinos dos fungos** . 3. ed. Santa Cruz Do Sul: EDUNISC, 2013.

RANATHUNGE, N. P. et al. *Colletotrichum truncatum* Pathosystem on *Capsicum* spp: infection, colonization and defence mechanisms. **Australasian Plant Pathology**, v. 41, n. 5, p. 463–473, 9 jul. 2012.

RAQUEL, S.; MARIA EUGENIA ESCANFERLA; NELSON SIDNEI MASSOLA. Prepenetration and Penetration of *Colletotrichum gloeosporioides* into Guava Fruit (*Psidium guajava* L.): Effects of Temperature, Wetness Period and Fruit Age. **Journal of Phytopathology**, v. 163, n. 3, p. 149–159, 22 jul. 2014.

REBOLEDO, G. et al. *Physcomitrella patens* Activates Defense Responses against the Pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 9, p. 22280–22298, 15 set. 2015.

REN, D. et al. Ethylene Promotes Expression of the Appressorium- and Pathogenicity-Related Genes via GPCR- and MAPK-Dependent Manners in *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 6, p. 570, 26 maio 2022.

RINCÓN BARÓN, E. J. et al. Alteraciones histopatológicas causadas por la roya *Puccinia nakanishikii* (Pucciniales: Pucciniaceae) en plantas de *Cymbopogon citratus* (Poaceae). **Revista de Biología Tropical**, v. 68, n. 2, 13 fev. 2020.

ROJO-BÁEZ, I. et al. Histopatología del proceso de infección de *Colletotrichum truncatum* en hojas de papaya y chicharo. **Revista mexicana de fitopatología(en línea)/Revista mexicana de fitopatología**, v. 34, n. 3, 21 jun. 2016.

SANTOS, A. F; PARISI, J. J. D.; MENTEM, J. O. M. (Eds.) **Patologia de sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas. 2011. 236 p.

SANTOS, A. S.; CURADO, F. F.; TAVARES, E. D. Pesquisas com sementes crioulas e suas interações com as políticas públicas na região Nordeste do Brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 36, n. 3, p. 26514–26514, 13 nov. 2019.

SANTOS, D. et al. Produtividade e morfologia de vagens e sementes de variedades de fava no Estado da Paraíba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 10, p. 1407–1412, 1 out. 2002.

SAVAGE, Z. et al. Chloroplasts alter their morphology and accumulate at the pathogen interface during infection by *Phytophthora infestans*. **The Plant Journal**, v. 107, n. 6, p. 1771–1787, 12 ago. 2021.

SÁVIO RAFAEL PEREIRA. A evolução do complexo soja e a questão da transgenia. **Revista de Política Agrícola**, v. 13, n. 2, p. 26–32, 27 jun. 2015.

SHANG, S. et al. Histological and ultrastructural characterization of the leaf infection events of *Colletotrichum fructicola* on *Malus domestica* “Gala”. **Plant Pathology**, v. 69, n. 3, p. 538–548, 3 fev. 2020.

SILVA, J. A. et al. Reação de genótipos de feijão-fava a *Sclerotium rolfsii*. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 98–101, 1 jan. 2014.

SILVA, J. L. et al. Essential oil of *Cymbopogon flexuosus*, *Vernonia polyanthes* and potassium phosphite in control of bean anthracnose. **Journal of medicinal plant research**, v. 9, n. 8, p. 243–253, 25 fev. 2015.

SILVA, R. A.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F. L. Defesa de plantas contra fitopatógenos, Documentos 250, **Embrapa Agrobiologia**, Seropédica, 2008, 49p.

SOARES, C. A.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; GÂNDARA, F. C. Aspectos socioeconômicos. **A cultura do feijão-fava no Meio Norte do Brasil**. Teresina: EDUFPI, 2010. p. 237-268.

STRASBURGER, E. **Handbook of practical botany**. 7. ed. London: George Allen, 1913. p. 527.

SVENDSEN A. B.; VERPOORTE R. **Chromatography of alkaloids**. New York: Elsevier, 1983. p. 550.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed: ARTMED, 2013. ISBN 9788536327952. v.61, n.2, p.135-154, 2004.

TALHINHAS, P. et al. Epidemiology, histopathology and aetiology of olive anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* in Portugal. **Plant Pathology**, v. 60, n. 3, p. 483–495, 1 jun. 2011.

VIEIRA, R. F. A cultura do feijão-fava. **Informe Agropecuário**, v.16, n.174, p.30-37, 1992.

VIGIL, C. C. **Manual del cultivo del pallar**. Fondo Empleo y CEDEP-Perú: Ica. 2009. 2.ed. 14p.

W. N. R. GUIMARÃES et al. Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 37–45, 1 fev. 2007.

W. N. R. GUIMARÃES et al. Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 37–45, 1 fev. 2007.

WANG, Y.; KERNS, J. P. Temperature Effects on Formation of Appressoria and Sporulation of *Colletotrichum cereale* on Two Turfgrass Species. **International Turfgrass Society Research Journal**, v. 13, n. 1, p. 123–132, 19 out. 2017.

WILLIAM AUGUST JENSEN. **Botanical Histochemistry: Principles and Practice**. W.H. Freeman, San Francisco, 1962. p. 408

YANG, Y. et al. Histopathology of internal fruit rot of sweet pepper caused by *Fusarium lactis*. **Canadian journal of plant pathology**, v. 32, n. 1, p. 86–97, 22 mar. 2010.