



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS

Ariana Kethery da Silva

**Eficiência de extratos etanólicos de plantas aquáticas no controle da antracnose
(*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Florianópolis, 2019

Ariana Kethery da Silva

**Eficiência de extratos etanólicos de plantas aquáticas no controle da antracnose
(*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Marciel J. Stadnik

Co-Orientador: Dr. João Américo Wordell Filho

Florianópolis, 2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Da Silva, Ariana Kethery

Eficiência de extratos etanólicos de plantas aquáticas no controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) / Ariana Kethery da Silva; orientador, Marciel J. Stadnik, coorientador, João Américo Wordell Filho, 2019.

79 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Recursos Genéticos Vegetais. 2. *Colletotrichum lindemuthianum*. 3. *Phaseolus vulgaris* L.). 4. Plantas aquáticas. 5. Extratos etanólicos. I., Marciel J. Stadnik. II., João Américo Wordell Filho. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. IV. Título.

Ariana Kethery da Silva

**Eficiência de extratos etanólicos de plantas aquáticas no controle da antracnose
(*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Dr. Maria Cristina Canale Rapussi

Pesquisa Agropecuária e Extensão rural de Santa Catarina

Dr. Ana Carolina Maissonave Arisi

Universidade Federal de Santa Catarina

Dr. Mateus Brusco de Freitas

Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Prof. Dr. Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares

Coordenador do Programa

Prof. Dr. Marciel J. Stadnik

Orientador

Florianópolis, 16 de agosto de 2019.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus;

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (RGV) pela oportunidade;

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

À empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão rural de Santa Catarina (EPAGRI) pela identificação da raça do fungo;

Ao Professor Dr. Marciel J. Stadnik, pela orientação, ensinamentos, incentivo e auxílio em todas as etapas do trabalho;

Ao Dr. João Américo Wordell, pela co-orientação e a Dr. Maria Cristina Canale Rapussi, pelo incentivo e apoio;

Ao Dr. Mateus Brusco, pelos ensinamentos e suporte dado durante o mestrado e aos colegas e amigos do Laboratório de Fitopatologia pela convivência, amizade e apoio. Vocês ficarão eternamente guardados em minhas lembranças;

À Lida e a Paula, por sempre estarem comigo, pelo apoio, força e carinho, vocês foram essenciais nesse momento da minha vida;

Aos Professores do programa todo conhecimento compartilhado e a banca avaliadora pela disponibilidade e colaboração;

À minha família, principalmente minha mãe Vilma, por todo amor, apoio e ensinamentos.

Ao meu namorado, Cristiano, pelo companheirismo, carinho e paciência;

A todos os que de alguma forma colaboraram nas diferentes etapas para a realização deste trabalho.

RESUMO

O presente trabalho avaliou a eficiência de extratos etanólicos de *Spirodela* sp., *Landoltia* sp., *Lemna* sp. e *Azolla* sp. sobre o desenvolvimento de *Colletotrichum lindemuthianum*, severidade da antracnose e crescimento de plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Para tal, a biomassa foi obtida de plantas aquáticas cultivadas em condições nutricionais controladas e seus compostos foram extraídos com etanol na relação 3,5 g peso seco/100 mL⁻¹. Os extratos foram testados *in vitro*, avaliando a influência sobre o crescimento micelial, germinação de conídio, formação e melanização dos apressórios de *C. lindemuthianum*. Para a avaliação do efeito local e sistêmico, plantas de *P. vulgaris* cv. Uirapuru foram tratadas 3 dias antes da inoculação, com água destilada estéril ou extratos das plantas aquáticas (50 mg.mL⁻¹), com posterior inoculação dessas plantas com uma suspensão de *C. lindemuthianum*. A severidade foi avaliada no primeiro e segundo trifólio aos 7 e 12 DAI. Para avaliar o efeito bioestimulante, sementes de feijoeiro foram embebidas nos extratos por 4 horas, semeadas em papel Germitest e acondicionadas por nove dias. Todos os extratos reduziram o crescimento micelial, assim como a porcentagem de conídios germinados, a formação e a melanização dos apressórios. Os extratos de *Landoltia* sp. e *Azolla* sp. reduziram em até 76% o crescimento micelial, enquanto o extrato de *Spirodela* sp. inibiu melanização do apressório de *C. lindemuthianum*. Na avaliação do efeito local, o extrato de *Landoltia* sp. reduziu em 36 % a severidade da antracnose aos 7 DAI, enquanto que o extrato de *Azolla* sp. mostrou uma redução de 16 % aos 12 DAI. Já na avaliação do efeito sistêmico, a *Lemna* sp. reduziu em 43 % a severidade aos 7 DAI. Por fim, quando avaliado o efeito bioestimulante, os extratos de *Spirodela* sp. e *Landoltia* sp. estimularam o crescimento das plantas e o incremento de matéria seca.

Palavras chave: Antracnose. *Araceae*. *Phaseolus vulgaris* L.. Plantas aquáticas. Controle de doenças.

ABSTRACT

The present work evaluated the efficiency of ethanolic extracts of *Spirodela* sp., *Landoltia* sp., *Lemna* sp. and *Azolla* sp. on the development of *Colletotrichum lindemuthianum*, severity of anthracnose and growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. For this, biomass was obtained from aquatic plants grown under controlled nutritional conditions and their compounds were extracted with ethanol in the ratio 3.5 g dry weight / 100 mL⁻¹. The extracts were tested in vitro, evaluating the influence on mycelial growth, germination of conidia, formation and melanization of appressoria of *C. lindemuthianum*. For the evaluation of local and systemic effect, plants of *P. vulgaris* cv. Uirapuru were treated 3 days before inoculation with sterile distilled water or extracts from aquatic plants (50 mg.mL⁻¹), with subsequent inoculation of these plants with a suspension of *C. lindemuthianum*. The severity was evaluated in the first and second trefoliate leaf at 7 and 12 DAI. To evaluate the biostimulating effect, bean seeds were soaked in the extracts for 4 hours, seeded in Germitest paper and conditioned for nine days. All the extracts reduced the mycelial growth, as well as the percentage of germinated conidia, the formation and melanization of apressories. The extracts of *Landoltia* sp. and *Azolla* sp. reduced mycelial growth by up to 76%, while *Spirodela* sp. inhibition of *C. lindemuthianum* appressory melanization. In the evaluation of the local effect, the extract of *Landoltia* sp. reduced the severity of anthracnose by 36% at 7 DAI, while *Azolla* sp. extract showed a 16% reduction at 12 DAI. In the evaluation of the systemic effect, *Lemna* sp. reduced severity by 43% at 7 DAI. Finally, when evaluated the biostimulating effect, the extracts of *Spirodela* sp. and *Landoltia* sp. stimulated plant growth and increased dry matter.

Key words: Anthracnose. *Araceae*. *Phaseolus vulgaris* L.. Aquatic plants. Disease control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sintomas da antracnose causada por <i>C. lindemuthianum</i> em plantas de feijão. (a) lesões no pecíolo; (b) vagem apresentando lesões arredondadas e deprimidas; (c) trifólio com lesões nas nervuras. Barras = 1 cm.....	21
Figura 2 - Vista lateral (a) e superior (b) das plantas aquáticas <i>Lemna</i> sp., <i>Landoltia</i> sp., <i>Spirodela</i> sp. e <i>Azolla</i> sp. (na devida ordem). Barras = 1 cm.....	30
Figura 3 - Cultivo de <i>Lemna</i> sp. (a), <i>Landoltia</i> sp. (b), <i>Spirodela</i> sp. (c) e <i>Azolla</i> sp. (d) em reservatórios de 35 L após 45 dias em reservatórios de 35 L.....	31
Figura 4 - Diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivado em meio BDA com diferentes concentrações de extratos etanólicos de plantas aquáticas e de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. cv. Uirapuru (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	39
Figura 5 - Colônias de <i>C. lindemuthianum</i> após 14 dias de incubação em meio BDA com diferentes concentrações de extratos etanólicos de plantas aquáticas (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹).....	40
Figura 6 - Germinação de conídios de <i>C. lindemuthianum</i> na presença de extratos etanólicos de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹), na porcentagem de germinação de conídios, formação de apressório e apressório melanizado de <i>C. lindemuthianum</i> após 48 horas de incubação.....	42
Figura 7 - Estruturas pré-infectivas de <i>C. lindemuthianum</i> após 48 de incubação em lâminas de poliestireno: testemunha (a), extrato de <i>Spirodela</i> sp. 100 mg.mL ⁻¹ (b).....	43
Figura 8 - Efeito local (a) e sistêmico (b) dos extratos etanólicos de <i>Lemna</i> sp., <i>Landoltia</i> sp., <i>Spirodela</i> sp., <i>Azolla</i> sp. (50 mg.mL ⁻¹) e Bion [®] (0,05 mg.mL ⁻¹) na severidade da antracnose (<i>C. lindemuthianum</i>) avaliada aos 7 e 12 dias após a inoculação em feijoeiro (<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. Uirapuru). Médias com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey (P≤0,05).	44
Figura 9 - Germinação de sementes de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. IPR Uirapuru 9 dias após serem embebidas em tratamentos com extratos etanólicos de <i>Lemna</i> sp., <i>Landoltia</i> sp., <i>Spirodela</i> sp., <i>Azolla</i> sp. (50 mg.mL ⁻¹). Comprimento parte aérea (a), comprimento raiz (b), peso fresco parte aérea (c), peso fresco raiz (d), peso seco parte aérea (e) e peso seco raiz (f) de plântulas de feijão <i>Phaseolus vulgaris</i> cv. IPR Uirapuru.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimento das plantas aquáticas coletadas em Florianópolis/SC entre os meses de abril e maio de 2018.....	32
Tabela 2 - Categorias com as estruturas emitidas pelo fungo <i>C. lindemuthianum</i> durante a germinação dos conídios.....	34
Tabela 3 - Tratamentos e concentrações utilizados no estudo do efeito de extratos etanólicos de plantas aquáticas no controle de <i>C. lindemuthianum</i> no feijoeiro.....	35
Tabela 4 - Escala descritiva da severidade da antracnose do feijoeiro.....	36
Tabela 5 - Coeficientes angulares obtidos nas regressões do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA nas concentrações de 25 e 50 mg.mL ⁻¹ dos extratos etanólicos de plantas aquáticas.....	40
Tabela 6 - Porcentagem de germinação de sementes e plântulas normais de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. IPR Uirapuru, submetidas a diferentes tratamentos com extratos etanólicos de plantas aquáticas (50 mg.mL ⁻¹).....	45

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 - Análise de variância (ANOVA) para os coeficientes angulares obtidos nas regressões do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA nas concentrações de 25 e 50 mg.mL ⁻¹ dos extratos etanólicos de plantas aquáticas.....	62
Anexo 2 - Análise de variância (ANOVA) para o Diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extratos etanólicos de plantas aquáticas e <i>Phaseolus vulgaris</i> L. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	62
Anexo 3 - Análise de variância (P≤0,05) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>Azolla</i> sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) e testemunha (0 mg. mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	63
Anexo 4 - Análise de variância (P≤0,05) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>Spirodela</i> sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	64
Anexo 5 - Análise de variância (P≤0,05) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>Lemna</i> sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	64
Anexo 6 - Análise de variância (P≤0,05) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>Landoltia</i> sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	65
Anexo 7 - Análise de variância (P≤0,05) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	65
Anexo 8 - Análise de variância (P≤0,05) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹), na porcentagem	

de germinação de conídios de <i>C. lindemuthianum</i> após 48 horas de incubação.....	66
Anexo 9 - Análise de variância ($P \leq 0,05$) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹), na porcentagem de formação de apressório de <i>C. lindemuthianum</i> após 48 horas de incubação.....	66
Anexo 10 - Análise de variância ($P \leq 0,05$) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹), na porcentagem de apressório melanizado de <i>C. lindemuthianum</i> após 48 horas de incubação.....	67
Anexo 11 - Análise de variância (ANOVA) para porcentagem de germinação de sementes e plântulas normais de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. IP Uirapuru, submetidas a diferentes tratamentos com extratos etanólicos de plantas aquáticas (50 mg.mL ⁻¹).....	67
Anexo 12 - Análise de variância (ANOVA) para o comprimento, peso fresco, peso seco de Plântulas de feijão <i>Phaseolus vulgaris</i> cv. IPR Uirapuru 9 dias após serem embebidas em tratamentos com extratos etanólicos de <i>Lemna</i> sp., <i>Landoltia</i> sp., <i>Spirodela</i> sp., <i>Azolla</i> sp. (50 mg.mL ⁻¹).....	68
Anexo 13 - Análise de variância (ANOVA) para o efeito local (a) e sistêmico (b) dos extratos etanólicos de <i>Lemna</i> sp., <i>Landoltia</i> sp., <i>Spirodela</i> sp., <i>Azolla</i> sp. (50 mg.mL ⁻¹) e Bion® (0,05 mg.mL ⁻¹) na severidade da antracnose (<i>C. lindemuthianum</i>) avaliada aos 7 e 12 dias após a inoculação em feijoeiro (<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. Uirapuru).....	69
Anexo 14 - Resultado do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para os coeficientes angulares obtidos nas regressões do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA nas concentrações de 25 e 50 mg.mL ⁻¹ dos extratos etanólicos de plantas aquáticas.....	69
Anexo 15 - Resultado do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para o Diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extratos etanólicos de plantas aquáticas e de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	70

Anexo 16 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>Azolla</i> sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) e testemunha (0 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	71
Anexo 17 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>Spirodela</i> sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	72
Anexo 18 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>Lemna</i> sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	73
Anexo 19 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>Landoltia</i> sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	73
Anexo 20 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de <i>C. lindemuthianum</i> cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>Azolla</i> sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹) e testemunha (0 mg.mL ⁻¹) durante 14 dias de incubação.....	74
Anexo 21 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹), na porcentagem de germinação de conídios de <i>C. lindemuthianum</i> após 48 horas de incubação.....	75
Anexo 22 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹), na porcentagem de formação de apressório de <i>C. lindemuthianum</i> após 48 horas de incubação.....	76
Anexo 23 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL ⁻¹), na porcentagem de apressório melanizado de <i>C. lindemuthianum</i> após 48 horas de incubação.....	77

Anexo 24 - Resultado do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para porcentagem de germinação de sementes e plântulas normais de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. IP Uirapuru, submetidas a diferentes tratamentos com extratos etanólicos de plantas aquáticas (50 mg.mL^{-1}).....	77
Anexo 25 - Resultado do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para comprimento, peso fresco, peso seco de Plântulas de feijão <i>Phaseolus vulgaris</i> cv. IPR Uirapuru 9 dias após serem embebidas em tratamentos com extratos etanólicos de <i>Lemna</i> sp., <i>Landoltia</i> sp., <i>Spirodela</i> sp., <i>Azolla</i> sp. (50 mg.mL^{-1}).....	78
Anexo 26 - Resultado do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para o efeito local (a) e sistêmico (b) dos extratos etanólicos de <i>Lemna</i> sp., <i>Landoltia</i> sp., <i>Spirodela</i> sp., <i>Azolla</i> sp. (50 mg.mL^{-1}) e Bion® ($0,05 \text{ mg.mL}^{-1}$) na severidade da antracnose (<i>C. lindemuthianum</i>) avaliada aos 7 e 12 dias após a inoculação em feijoeiro (<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. Uirapuru).....	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C - Conídio

AP - Apressório

TG - Tubo germinativo

RPM - Rotações por minuto

BDA - Batata-dextrose-ágar

ADE - Água destilada esterilizada

UR - Umidade relativa

RAS - Regra de análise de sementes

ANOVA - Análise de variância

DAI - Dias após a inoculação

SAR - Resistência sistêmica adquirida

NS - Não significativo

ISR - Resistência sistêmica induzida

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	17
1.1 OBJETIVOS	18
1.1.1 Geral.....	18
1.1.2 Específicos	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Cultura do feijoeiro	19
2.2 Antracnose do feijoeiro	20
2.3 Processo infeccioso	22
2.4 Controle da antracnose.....	22
2.5 Indução de resistência	24
2.6 Bioestimulantes	25
2.7 Plantas aquáticas	26
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Condições experimentais	29
3.2 Obtenção do isolado.....	29
3.3 Coleta e cultivo das plantas aquáticas.....	30
3.4 Obtenção de extratos etanólicos.....	32
3.5 Ensaio <i>in vitro</i>	32
3.5.1 Crescimento micelial de <i>C. lindemuthianum</i>	33
3.5.2 Germinação de conídios, formação e melanização de apressórios de <i>C. lindemuthianum</i>	33
3.6 Tratamento das plantas.....	34
3.7 Inoculação	35
3.8 Avaliação da severidade.....	35
3.9 Efeito dos extratos sobre a germinação de sementes e crescimento de plântulas de feijão	36
3.10 Desenho experimental e análise estatística	37
4. RESULTADOS.....	38
4.1 Ensaio <i>in vitro</i>	38
4.1.1 Crescimento micelial de <i>C. lindemuthianum</i>	38

4.1.2	Germinação de conídios, formação e melanização de apressórios de <i>C. lindemuthianum</i>	41
4.2	Efeito local e sistêmico dos extratos de plantas aquáticas sobre plantas de feijão	43
4.3	Efeito dos extratos sobre a germinação de sementes e crescimento de plântulas de feijão	45
5.	DISCUSSÃO	47
6.	CONCLUSÃO	51
7.	REFERÊNCIAS	52
8.	ANEXOS	62

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é considerado alimento básico para a maioria da população, representa um importante componente da dieta humana em diversas regiões do mundo e é uma cultura de expressão sócio-econômica no Brasil (LAJOLO et al., 1996). O país situa-se entre os principais produtores mundiais, sendo superado apenas por Myanmar e Índia (FAO, 2018). No entanto, a cultura é suscetível à ação dos agentes ambientais, seja de origem abiótica ou biótica (DOURADO NETO & FANCELLI, 2000). Inúmeras doenças diminuem o rendimento e podem depreciar a qualidade do produto (SARTORATO, 2004). Dentre essas, a antracnose, causada pelo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Scrib., é uma das doenças mais importantes da cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Esta doença incide em cultivares suscetíveis em todo o mundo, podendo promover perdas totais em combinações de cultivar suscetível e clima favorável ao desenvolvimento do fungo (CHAVES, 1980; SARTORATO, 1988; SCHWARTZ, 1994).

A antracnose é uma doença difícil de ser controlada, pois além do fungo sobreviver em restos culturais e no interior das sementes, ele apresenta uma ampla variabilidade genética. (SARTORATO, 2006), o que dificulta o desenvolvimento de cultivares com uma resistência genética duradoura. Os principais métodos de controle utilizados atualmente são práticas culturais, cultivares resistentes e controle químico. Entretanto, o uso excessivo de fungicidas, além de aumentar os custos da produção, pode selecionar patógenos resistentes, dificultando ainda mais o manejo da doença (BOSCH et al., 2014).

O desenvolvimento de alternativas complementares ao controle químico e genético é indispensável. Entre essas alternativas, a indução de resistência e a atividade antimicrobiana mostram ser promissoras e menos agressivas à saúde humana e ao meio ambiente. Sabe-se que as plantas sintetizam metabólitos secundários que podem mostrar efeito antimicrobiano e servir como mecanismo de defesa vegetal contra microorganismos patogênicos (COWAN, 1999; DAS et al., 2010). Além disso, essas moléculas vêm sendo estudadas quanto a sua capacidade de atuar na regulação do crescimento, desenvolvimento de plantas e na elicitação de seus mecanismos de defesa contra estresses bióticos e abióticos (PAULERT & STADNIK, 2008). Em estudo realizado por Abreu et al. (2008), o extrato de *Lemna* sp. reduziu a severidade de *C. lindemuthianum* quando aplicado na planta e inibiu totalmente a germinação dos conídios *in vitro*. Assim como, o extrato de *Azolla* sp. mostrou efeito antimicrobiano contra *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp. e *Citrobacter* sp., mas poucos estudos existem testando seu efeito em doenças causadas por fungos.

Diante da dificuldade na obtenção de materiais resistentes à antracnose, e devido aos resultados promissores obtidos e a rápida produção de biomassa das plantas aquáticas, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de extratos de plantas aquáticas sobre o desenvolvimento de *C. lindemuthianum*, a severidade da antracnose e o crescimento de plântulas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Avaliar a eficiência de extratos etanólicos de plantas aquáticas sobre o desenvolvimento de *C. lindemuthianum*, a severidade da antracnose e o crescimento de plântulas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.).

1.1.2 Específicos

Testar *in vitro* o efeito dos diferentes extratos etanólicos de plantas aquáticas sobre o crescimento micelial, a germinação de conídios e a formação de apressório de *C. lindemuthianum*.

Avaliar e comparar o efeito local e sistêmico sobre a severidade de *C. lindemuthianum* em plantas de feijoeiro pulverizadas com extratos de plantas aquáticas.

Testar o efeito dos extratos etanólicos de plantas aquáticas na germinação de sementes, comprimento de parte aérea, comprimento radicular e produção inicial de biomassa.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura do feijoeiro

Phaseolus vulgaris L., popularmente conhecido como feijão comum, é a espécie mais cultivada do gênero *Phaseolus* (EMBRAPA, 2008). A leguminosa pertence à família *Fabaceae* e à subfamília *Faboideae* (VILHORDO et al., 1996). Estima-se que a domesticação do feijoeiro aconteceu há aproximadamente 7000 anos (SINGH, 2001). Dois centros de diversidade genética independentes estão envolvidos na sua domesticação: o mesoamericano ou grupo do norte (do México à região norte da América do Sul) e o andino (do sul do Peru ao norte da Argentina) (DEBOUCK, 1986).

O feijão é considerado um alimento básico para a maioria da população brasileira, sendo uma das principais fontes de proteína, fornecendo também carboidratos, vitaminas, ferro e ácidos graxos livres, além de grande quantidade de fibras solúveis e insolúveis (BROUGHTON et al., 2003; SINGH et al., 1992).

Existem mais de 70 espécies do gênero *Phaseolus* já identificadas, mas apenas cinco são cultivadas: o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*); o feijão de lima (*Phaseolus lunatus*); o feijão ayocote (*Phaseolus coccineus*); o feijão tepari (*Phaseolus acutifolius*); e o *Phaseolus polyanthus* (EMBRAPA, 2008), sendo o *P. vulgaris* a espécie com maior distribuição mundial e responsável por mais de 85% da produção (SINGH, 2001; ACOSTA-GALLEGOS et al., 2007). Os seis principais países produtores de feijões, que juntos respondem por cerca de 56,9% da produção média mundial, são: Myanmar, Índia, Brasil, EUA, México e Tanzânia (FAO, 2018). Dentre as regiões produtoras no país, destaca-se a região Centro-Oeste, contribuindo com 30% da produção na safra de 2017/2018, seguido do Sul com 29,5% e do Sudeste com 26,8%. O estado do Paraná é o principal produtor nacional com 20% do total produzido, seguido por Minas Gerais (15,8%), Mato Grosso (13%) e Goiás (10%). A estimativa para 2019 é que sejam produzidos 3,1 milhões de toneladas (CONAB, 2018).

As plantas de feijão podem ter hábito de crescimento determinado, ou seja, o caule e os ramos laterais terminam em uma inflorescência ou indeterminado, quando o caule principal possui crescimento contínuo e as inflorescências se desenvolvem nas axilas das folhas (GRAHAM; RANALLI, 1997). Na dependência do genótipo e das condições ambientais, seu ciclo vegetativo pode durar de 65 a 120 dias (AFONSO, 2010). A temperatura média ideal para o desenvolvimento da cultura varia de 18 a 24°C durante o dia e de 15 a 21°C durante a

noite. Porém, em temperaturas próximas de 35°C praticamente não ocorre à formação de vagens (GRAHAM; RANALLI, 1997).

O feijoeiro é bastante vulnerável à ação dos agentes ambientais, sejam de origem abiótica ou biótica, o qual gera uma instabilidade produtiva (DOURADO NETO & FANCELLI, 2000). Além disso, o cultivo é suscetível a inúmeras doenças que diminuem tanto a produtividade da cultura, quanto a qualidade do produto (SARTORATO, 2004). Portanto, o setor produtivo do feijoeiro no Brasil tem à disposição diversas cultivares produtivas e adaptadas a diferentes regiões. Por exemplo, a cultivar IPR88-Uirapuru, desenvolvida pelo IAPAR (Instituto Agrônômico do Paraná), possui hábito de crescimento indeterminado com início de floração em 42 dias, maturação ideal para a colheita em 90 dias (HEMP, 2004). Porém, esta cultivar apresenta suscetibilidade à raça 73 de *Colletotrichum lindemuthianum* (LOFFAGUEN; TALAMINI; STADNIK, 2005).

2.2 Antracnose do feijoeiro

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn) Scrib. é uma das principais doenças do feijoeiro, incidindo em cultivares suscetíveis em todo o mundo (CHAVES, 1980; SARTORATO, 1988). As perdas causadas pela doença podem chegar a 100%, quando são utilizadas sementes infectadas e as condições de temperatura e umidade relativa do ar são favoráveis (CHAVES, 1980; SARTORATO, 1988; SCHWARTZ, 1994).

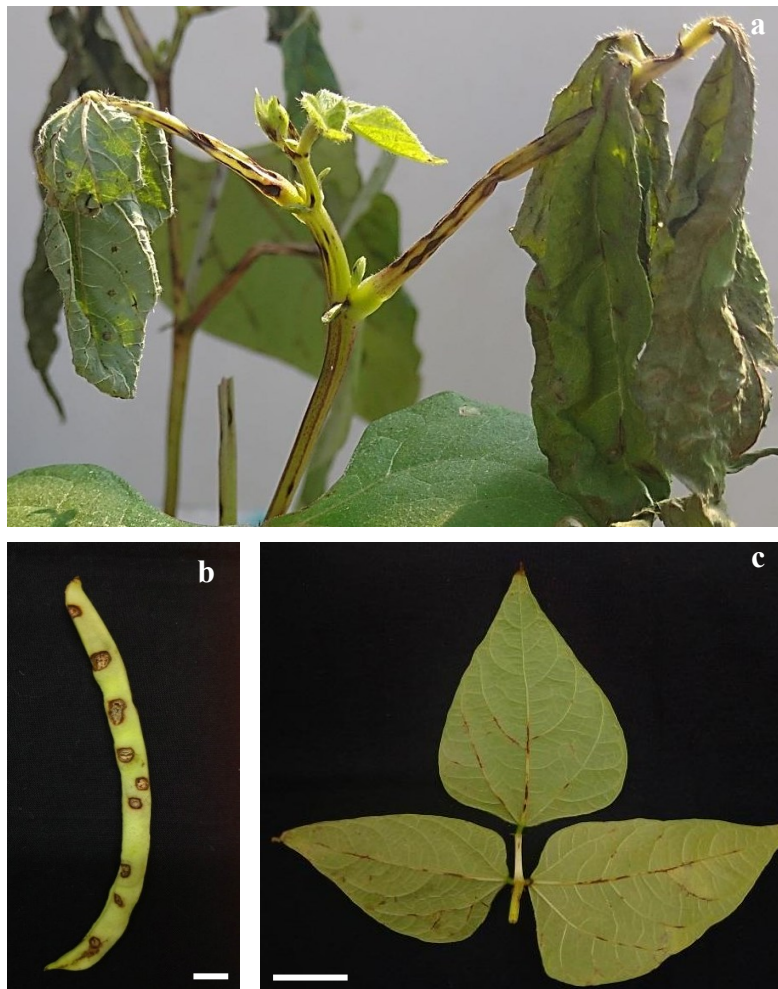
C. lindemuthianum pertence à classe *Coelomycetes*, ordem *Melanconiales*, família *Melanconiaceae*. O fungo produz micélio septado e ramificado de coloração hialina a negra à medida que envelhece. Os conídios são hialinos e unicelulares, podem ser arredondados, cilíndricos, oblongos, com as pontas arredondadas ou levemente pontiagudas (CHAVES, 1980; SATORATO, 1988; SCHWARTZ, 1994). As dimensões dos conídios variam de 4-5 µm x 13-22 µm. Além disso, os conídios são formados no interior de acérvulos e sobre conidióforos hialinos, eretos e ramificados, que medem cerca de 40-60 µm e são envoltos por uma massa gelatinosa de cor salmão ou rosa (CHAVES, 1980; SARTORATO, 1988).

A temperatura ideal para o desenvolvimento do fungo é entre 13°C a 26°C, com o ótimo a 21°C, se estabelece principalmente em regiões de temperatura moderada a fria e com alta umidade relativa do ar (BIANCHINI et al., 1997; PAULA-JR. & ZAMBOLIM, 1998). A disseminação de *C. lindemuthianum* se dá à longa distância principalmente através de sementes infectadas e a curta distância por respingos de chuva. O patógeno sobrevive de uma

safra a outra com o micélio dormente no interior das sementes e em restos culturais (CHAVES, 1980; SARTORATO, 1988).

Os sintomas da antracnose são observados em toda a parte aérea da planta. Nas folhas e na face abaxial ao longo das nervuras, as lesões são de cor parda avermelhada e evoluem para lesões de cor café-escuro a negra (Figura 1). Nos pecíolos e no caule, as lesões produzidas são ovaladas, às vezes deprimidas e de coloração escura (CHAVES, 1980; SARTORATO, 1988; SCHWARTZ, 1994). Nas vagens, as lesões são geralmente arredondadas e deprimidas, com coloração marrom, bordas escuras e salientes, circundadas por um anel de coloração parda-avermelhada, podendo apresentar o centro de coloração clara ou rosada, devido à esporulação do fungo (SARTORATO, 1988; BIANCHINI et al., 1997).

Figura 1 - Sintomas da antracnose causada por *C. lindemuthianum* em plantas de feijão. (a) Lesões no pecíolo; (b) vagem apresentando lesões arredondadas e deprimidas; (c) trifólio com lesões nas nervuras. Barras = 1 cm.



Fonte: desenvolvido pelo autor.

2.3 Processo infeccioso

C. lindemuthianum é um fungo hemibiotrófico, ou seja, seu processo infeccioso é dividido em duas fases: uma fase biotrófica e uma necrotrófica. Nos eventos pré-penetração, os conídios iniciam a formação do tubo germinativo cerca de 6 a 9 horas após a deposição e a adesão à superfície foliar. Posteriormente, quando o tubo germinativo cessa o seu crescimento, ocorre a diferenciação do apressório (PERFECT et al., 1999). Em seguida, são formadas novas camadas de parede celular, poros de penetração, deposição de melanina e substâncias mucilaginosas, levando a maturação do apressório (BAILEY et al., 1992; PERFECT et al., 1999; O'CONNEL et al., 2000). Após a fixação do apressório na superfície da folha ocorre a formação de uma hifa infectiva a partir do poro do apressório e inicia a penetração (WHARTON et al., 2001).

A penetração ocorre diretamente através da cutícula e da parede celular do hospedeiro (WHARTON et al., 2001) pela combinação de força mecânica e secreção de enzimas responsáveis pela degradação de cutina (BAILEY et al., 1992). Após a penetração, inicia-se a fase biotrófica, o estabelecimento do patógeno no hospedeiro ocorre de 2 a 4 dias após a infecção. O fungo coloniza os tecidos formando uma extensa hifa primária intracelular e vesículas de infecção em células invadidas que permanecem vivas e as plantas não mostram quaisquer sintomas. A fase necrotrófica inicia-se com a formação de finas hifas secundárias que crescem intra e intercelularmente enquanto secretam enzimas e que matam rapidamente as células do hospedeiro. Nesta fase, os sintomas são visíveis na planta (BAILEY et al., 1992; O'CONNEL et al., 2000).

2.4 Controle da antracnose

A antracnose do feijoeiro é uma doença difícil de ser controlada, pois além do agente causal sobreviver de uma safra para outra com o micélio dormente no interior das sementes ou na forma de esporos em restos culturais, o fungo também possui uma ampla variabilidade genética (SANSIGOLO, 2007). A utilização de cultivares resistentes é considerado o método de controle mais apropriado para a antracnose por permitir a redução nos custos da produção e uma diminuição na contaminação do ambiente (TALAMINI et al., 2004; LOFFAGUEN; TALAMINI; STADNIK, 2005). No entanto, o sucesso no desenvolvimento destas cultivares depende do entendimento dos níveis de variabilidade dentro e entre populações do patógeno (RAVA et al., 1993).

A resistência do feijoeiro à antracnose é do tipo monogênica e raça-específica, conhecida como resistência vertical. Este tipo de resistência reduz o desenvolvimento da doença atuando sobre o inóculo inicial do patógeno e é conferida por um único gene dominante, genes duplicados ou complementares, conhecidos com genes R, os quais são responsáveis pelo reconhecimento do patógeno, sendo que não existem genes que conferem resistência a todas as raças conhecidas do fungo (MAHUKU et al., 2002; AGRIOS, 2005).

A variabilidade de *C. lindemuthianum* tem sido um fator decisivo na desestabilização da resistência das cultivares e uma dificuldade adicional para a obtenção de novas cultivares resistentes (BALARDIN & PASTOR-CORRALES, 1990). A primeira comprovação da existência de variabilidade patogênica no fungo foi realizada por Barrus (1918, citado por Beebe; Pastor-Corrales, 1991), diferenciando duas raças fisiológicas, as quais se denominaram alfa e beta. Posteriormente, pesquisas relataram a existência de muitas outras raças no Brasil e no mundo. Desde então foram iniciados trabalhos para a identificação de raças deste fungo (CHAVES, 1980; RAVA et al., 1993). Em 1988, na Primeira Reunião Latino Americana da Antracnose do feijoeiro, realizada no CIAT (Cali, Colômbia), foi padronizado um grupo de 12 cultivares diferenciadoras e definido a utilização de um sistema binário de identificação. Cada cultivar possui um valor binário e por meio da expansão binomial e da soma destes valores é determinada a raça (PASTOR-CORRALES, 1991). A raça 73 de *C. lindemuthianum* é patogênica às seguintes cultivares diferenciadoras: Michelite, Cornell 49-242 e México 222, sendo o isolado de *C. lindemuthianum* de mais ampla ocorrência nacional (LOFFAGUEN et al., 2005).

As práticas culturais e o controle químico também são importantes métodos de controle (SARTORATO et al., 1996; SARTORATO; RAVA; FARIA, 2009). Assim, a utilização de sementes livres de patógeno, a rotação de culturas, a eliminação dos restos culturais, densidade de semeadura adequada e a eliminação de sementes que apresentem manchas ou defeitos são práticas culturais recomendadas para o controle da antracnose (CHAVES, 1980; SARTORATO, 1988; SCHWARTZ, 1994; SARTORATO et al., 1996; SARTORATO; RAVA; FARIA, 2009).

O controle químico da antracnose pode ser realizado através do tratamento das sementes ou da pulverização de fungicidas a campo. O tratamento de sementes com fungicidas sistêmicos pode inviabilizar esporos e/ou micélio do fungo presentes no interior da semente (SARTORATO, 1988; SARTORATO et al., 1996). Fungicidas protetores e sistêmicos podem ser utilizados no controle da antracnose, sendo que, ao aparecimento dos primeiros sintomas deve-se iniciar o tratamento. Diversos grupos químicos são registrados no

Ministério da Agricultura para o controle da antracnose; dentre eles, cita-se as estrobilurinas, triazóis e benzimidazóis (AGROFIT, 2019). Porém, novas alternativas para a proteção de plantas, tais como a indução de resistência, mostram-se menos agressivas à saúde humana e ao equilíbrio de agroecossistemas (STADNIK & MARASCHIN, 2004).

2.5 Indução de resistência

As plantas possuem mecanismos pré-existent de defesa que podem ser físicos ou químicos, tais como camadas de cera, cutícula, adaptações em estômatos e compostos antimicrobianos (AGRIOS, 2005). Outros mecanismos são ativados após o reconhecimento do patógeno, formando tiloses, papilas, camadas de cortiça e de abscisão, produção de compostos como as fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese (PR-proteínas) e espécies ativas de oxigênio (STADNIK & MARASCHIN, 2004; AGRIOS, 2005).

A ativação de defesa nas plantas contra invasores está relacionada à capacidade de detectá-los. Para isso, a planta depende de vários mecanismos para a percepção de sinais moleculares (CLUZET et al., 2004; STADNIK & MARASCHIN, 2004). Os elicitores são moléculas sinalizadoras que podem ser de natureza química variável, mais comumente carboidratos, lipídios, proteínas e glicoproteínas. Moléculas como estas são liberadas pelos patógenos e desencadeiam mecanismos de sinalização, os quais iniciam geralmente com um influxo de cálcio e uma explosão oxidativa, seguido da síntese de moléculas sinalizadoras, tais como o ácido salicílico, o ácido jasmônico e o etileno (CLUZET et al., 2004).

A resistência sistêmica adquirida (*Systemic Acquired Resistance* – SAR) ocorre em resposta à ação de um patógeno causador de necrose, seu desenvolvimento pode ser local e sistêmico. A expressão da SAR leva a uma redução no tamanho e/ou número de lesões causadas pelo patógeno, como consequência ocorre o atraso no desenvolvimento da doença (HAMMERSCHMIDT, 1999; STADNIK & MARASCHIN, 2004). A SAR fornece proteção contra um amplo espectro de patógenos, é mediada por uma via dependente do ácido salicílico e caracterizada pelo acúmulo de proteínas relacionadas com a patogênese (PR) (OOSTENDORP et al., 2001). Já a resistência induzida, conhecida como resistência sistêmica induzida (*Induced Systemic Resistance* – ISR), pode ser sistemicamente induzida pela presença de microrganismos benéficos que colonizam o sistema radicular das plantas, como fungos endofíticos, micorrizas e rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs). Este tipo de resistência é efetiva contra um amplo espectro de patógenos e também insetos herbívoros (PIETERSE et al., 2014). Além disso, a ISR não envolve o acúmulo de proteínas

PR e é mediada por uma via envolvendo jasmonato/etileno (HAMMERSCHMIDT, 1999; STADNIK & MARASCHIN, 2004).

Os indutores de resistência podem ser de origem natural ou sintética (GUAADAOUÏ et al., 2014). Por exemplo, indutores naturais: extratos algais de *Laminaria digitata* L. (Iodus 40[®], Goëmar), *Ulva fasciata* (DELILE, 1813) e a pré-inoculação com patógenos virulentos e avirulentos. Dentro dos indutores sintéticos se destacam compostos químicos, tais como fosfatos, derivados do ácido salicílico, ácido 2,6 dicloroisonicotínico e acibenzolar-S-metil (STADNIK & MARASCHIN, 2004). O acibenzolar-S-metil (Bion[®], Syngenta) é um análogo funcional do ácido salicílico (WALTERS; HEIL, 2007) e é comercializado no Brasil para o controle da antracnose e de outras doenças causadas por bactérias e vírus na cultura do feijoeiro (AGROFIT, 2019).

2.6 Bioestimulantes

Bioestimulante é qualquer substância ou microrganismo aplicado a plantas com o objetivo de melhorar a sua eficiência nutricional, a tolerância a estresses abióticos e/ou a qualidade dos cultivos, independente de seu conteúdo nutricional (DU JARDIN, 2015). Estas substâncias são oriundas da mistura de dois ou mais biorreguladores vegetais ou destes com outras substâncias (aminoácidos, nutrientes e vitaminas), que podem ser aplicados diretamente nas plantas ou em tratamento de sementes, sendo na sua maioria destinado a parte aérea das plantas (KLAHOLD et al., 2006). Atuam modificando ou alterando processos metabólicos e fisiológicos vegetais, tais como a divisão e o alongamento celular, a síntese de clorofila, a fotossíntese, a diferenciação das gemas florais, a fixação e o tamanho dos frutos e a absorção de nutrientes (DU JARDIN, 2015). Estes biorreguladores favorecem a expressão do potencial genético das plantas, promovem o equilíbrio hormonal, estimulam o desenvolvimento do sistema radicular (CASTRO & VIEIRA, 2001; SILVA et al., 2008), podem aumentar a taxa de fotossíntese e resistência a doenças e pragas (KHAN et al., 2009), influenciar positivamente a expressão de genes e a atividade de enzimas atuantes no metabolismo primário e secundário (NARDI et al., 2016). Além disso, muitas destas substâncias aumentam a absorção de água e de nutrientes pelas plantas, bem como a resistência aos estresses hídricos e aos efeitos residuais de herbicidas no solo, fazendo com que seu uso na agricultura seja crescente (VASCONCELOS, 2006).

Atualmente, a utilização de extratos de algas e plantas vem ganhando popularidade por seu potencial de uso na agricultura orgânica e sustentável (AZIZ et al., 2003), para

melhorar a absorção de minerais e como um meio para evitar a excessiva aplicação de fertilizantes. As algas são consideradas uma das matérias-primas mais usadas nas formulações de produtos bioestimulantes. Ao contrário dos fertilizantes químicos, os extratos derivados de algas são biodegradáveis, não-tóxicos, não-poluentes e não perigosos para os seres humanos e animais (RATHORE et al., 2009). Algumas espécies de algas produzem moléculas bioativas capazes de estimular processos fisiológicos e induzir resistência a estresses, como por exemplo, o extrato de alga da espécie *Ascophyllum nodosum* L., popularmente conhecida como alga parda ou marrom, originada principalmente no Canadá, França e Irlanda. Esta alga é uma fonte natural de macro e micronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, B, Fe, Mn, Cu e Zn), aminoácidos, citocininas, auxinas, e ácido abscísico. Todas estas substâncias afetam o metabolismo celular das plantas e conduzem ao aumento do crescimento, bem como ao incremento da produtividade (PAYAN; STALL, 2004; ZHANG; ERVIN, 2004; ALBUQUERQUE, 2008; TAIZ; ZAIGER, 2009).

2.7 Plantas aquáticas

As plantas vasculares aquáticas compõem um conjunto único de diversidade florística e adaptações ecológicas. Além disso, estas plantas desenvolvem um papel ecológico fundamental e possuem grande importância econômica (LEON & YOUNG, 1996). Entre elas, a subfamília *Lemnoideae* é representada pelas menores angiospermas conhecidas em todo o mundo, sendo frequentemente confundidas com algas (SKILLICORN et al., 1993). Porém são macrófitas (vegetais superiores) de hábito aquático.

As plantas da subfamília *Lemnoideae* (Antiga família *Lemnaceae*) compõem à família *Araceae*. No Brasil, estas plantas são popularmente conhecidas como lentilha d'água, marrequinha, alguinha e *duckweed* (IQBAL, 1999). Cinco gêneros foram descritos: *Lemna*, *Landoltia*, *Spirodela*, *Wolffia* e *Wolffiella* (POTT et al., 2002), compreendendo cerca de 40 espécies (SKILLICORN et al., 1993). Dentre estes gêneros, *Lemna* e *Spirodela* são os mais conhecidos.

Esta subfamília está representada em todo o globo, sob os diversos climas, com exceção das regiões desérticas ou permanentemente congeladas. Sua distribuição é ampla e bastante descontínua, provavelmente devido à dispersão de longa distância por aves (LES et al., 2003). São encontradas em corpos de água doce ou com pouca salinidade (até 4g/L), protegidos de ventos fortes e sem correntezas. Geralmente formam densas populações (LANDOLT & KANDELER, 1987). Apesar de tolerarem temperaturas muito baixas, as

plantas se desenvolvem melhor em regiões quentes (LANDOLT & KANDELER, 1987). São exigentes em relação a nutrientes, principalmente fontes de nitrogênio e fósforo, apresentam a maior taxa de crescimento entre os vegetais superiores, quando desenvolvidas em condições ideais (IQBAL, 1999).

As *Lemnoideae* possuem um componente simplificado em uma única estrutura chamado de fronde, que se trata da fusão de folha e caule. Elas produzem uma ou mais raízes e são possuidoras de sistema vascular altamente reduzido. No entanto, os gêneros de *Wolffia* e *Wolffiella* não possuem raízes e nem tecido vascular (LANDOLT, 1986). A reprodução assexuada é a forma mais frequente de propagação, estratégia que gera uma grande população clonal de uma única planta (CROSS, 2006).

Essas plantas aquáticas constituem um elo na cadeia trófica, como alimento para pequenos organismos, peixes e aves, e abrigo de microfauna, e atuam como despoluidoras (LANDOLT 1986, LANDOLT & KANDELER, 1987). De acordo com Ran et al. (2004), as plantas da subfamília *Lemnoideae* apresentam excelentes resultados na redução dos níveis de poluentes contidos em águas residuais. Além disso, possuem um crescimento muito rápido e acumulam biomassa a taxas muito mais elevadas do que a maioria das outras plantas (CHENG et al., 2002; XU & SHEN, 2011; GE et al., 2012). Devido a sua alta taxa de crescimento, as lentilhas podem ser consideradas plantas daninhas e causar desequilíbrios ecológicos (POTT, 2002).

A proteína presente na biomassa pode ser dez vezes maior que a produção de proteína da soja, segundo Said et al. (1979), possui baixa quantidade de fibras e são ricas em aminoácidos essenciais (HILLMAN et al., 1978, ISLAM 2002), semelhante à proteína animal. Segundo Iqbal (1999), a produtividade média dessas plantas em regiões tropicais e subtropicais é estimada entre 10-30 t (peso seco)/ha/ano, sendo que o teor de proteína em seu peso seco pode variar entre 16 e 53% (EDWARDS 1992, LENG et al., 1995, ALNOZAILY et al., 2000). Nos últimos anos, tem crescido o interesse nas plantas da subfamília *Lemnoideae*, devido as suas aplicações como biorremediação, produção de proteína para alimentação animal, produção de biocombustível (CHANTIRATIKUL et al., 2010; MOHEDANO et al., 2012) ou até mesmo como planta medicinal. A *Spirodela polyrrhiza*, por exemplo, é considerada uma tradicional planta medicinal chinesa para o tratamento da gripe, urticária e nefrite aguda (COMISSÃO DE FARMACOPEIA, 2010).

Estudos recentes mostram o potencial dessas plantas aquáticas no controle de doenças em plantas. Estudos realizados por Abreu et al. (2008) mostraram que o extrato de *Lemna* sp. inibiu a germinação *in vitro* dos conídios de *C. lindemuthianum*. Além disso, o

tratamento *in planta* reduziu a severidade cerca de 9-14% na avaliação do efeito residual, enquanto o efeito sistêmico foi em torno de 55% em relação à testemunha. A atividade antimicrobiana dos extratos de *Spirodela* sp., *Lemna* sp. e *Landoltia* sp. também foi comprovada por Xie et al. (2014) em estudos contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Agrobacterium* sp..

O gênero *Azolla* sp. pertence à família Salvinaceae e possui 7 espécies (SOOD & AHLUWALIA, 2009). São consideradas pequenas samambaias aquáticas, que crescem naturalmente em rios, lagos, valas, canais e campos de arroz contendo água ociosa, distribuída em regiões tropicais a temperada. É uma macrófita aquática flutuante de hábito livre de 1 a 2,5 centímetros de comprimento, com uma arquitetura tipo losango (SINGH, 1989). O caule é ramificado, prostrado, delgado e provido de pequenas raízes filamentosas, com reprodução por esporos e por meios vegetativos. Suas frondes são pequenas, imbricadas e normalmente apresentam-se de cor verde, mas em condições de stress ambiental o lobo dorsal adquire uma coloração avermelhada devido à presença de pigmentos como antocianinas (CARRAPIÇO et al., 2001). Esta samambaia representa o único exemplo de Pteridophyta que abrigam associação simbiótica com cianobactérias filamentosas da espécie *Anabaena azollae*, que habitam as cavidades nos lobos dorsais das folhas (SOOD et al., 2009). Este gênero diversificado de cianobactérias que fixam o nitrogênio é amplamente difundido em regiões polares, em habitats aquáticos e terrestres, em tanto árido como em solos de zonas húmidas (DODDS et al., 1995). Ao longo do filamento dessas cianobactérias encontram-se células vegetativas normais que possuem a função de realizar a fotossíntese e células especializadas na fixação de nitrogênio, os heterocistos (SHI & HALL, 1988).

Como resultado de seu alto crescimento e taxas de fixação de nitrogênio, a *Azolla* sp. têm sido usada como fertilizante biológico em plantações de arroz no sudeste asiático por vários séculos (ABRAHAM & AERI, 2012). Além disso, é utilizada na alimentação, devido ao alto teor de proteína de sua biomassa, estando entre 200-400 g/kg do peso seco, cerca de 20 a 40% de proteína (BUCKINGHAM, 1978). Além do uso como biofertilizante e suplementos alimentares, é explorada como supressor de ervas daninhas, larvicida, nematicida, utilizada para produção de biogás, tratamento de águas residuais (PABBY et al., 2004) e estudos indicam atividade antimicrobiana contra várias bactérias patogênicas (NAYAK; PADHY; SINGH, 2015).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Condições experimentais

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis-SC, Brasil), durante os anos de 2017 e 2018. O cultivar IPR88 – Uirapuru foi escolhido para a realização do trabalho devido à reação de suscetibilidade ao isolado da raça 73 de *C. lindemuthianum*. Para isso seis sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Uirapuru) foram semeadas de forma equidistante em vaso plástico preto n° 3 (Plasticofer Ltda., Brasil) de 2 L, contendo substrato composto por uma mistura homogênea de solo orgânico. Os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação e as plantas irrigadas de acordo com seus requerimentos hídricos.

No estágio fenológico V2 (folhas primárias de 50% das plantas completamente desenvolvidas), foi realizado o desbaste deixando-se três plantas por vaso. Foi considerada uma unidade experimental cada vaso com três plantas. As plantas retiradas da unidade experimental durante o desbaste, foram utilizadas para a realização do extrato de *Phaseolus vulgaris* L. cv. Uirapuru. Para a prevenção contra o oídio do feijoeiro, as plantas foram pulverizadas, semanalmente, com uma solução de Enxofre 80 % (3 g.L⁻¹, Kumulus[®], BASF).

3.2 Obtenção do isolado

Foi utilizado o isolado monospórico da raça 73 de *C. lindemuthianum*, proveniente de plantas de feijão com sintomas de antracnose coletadas nas áreas experimentais do Centro de ciências agrárias-CCA/UFSC, Florianópolis SC 48°30'18.3"O 27°34'58.6"S. Para tal, segmentos de tecido doente foram desinfestados superficialmente em álcool 70 % por trinta segundos, hipoclorito de sódio a 0.5 % por trinta segundos e posterior dupla lavagem com água destilada estéril (ADE). Posteriormente, os segmentos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata dextrose ágar (BDA). As placas foram incubadas em temperatura média de 25 °C por 15 dias. Após o crescimento e a esporulação do isolado, foi realizada uma cultura monospórica. Amostras da cultura em placas de Petri foram enviadas para o laboratório de fitossanidade da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina EPAGRI-CEPAF de Chapecó, a fim de obter a determinação da raça de *C. lindemuthianum*. O isolado foi mantido em meio BDA e utilizado em todos os ensaios.

3.3 Coleta e cultivo das plantas aquáticas

Para o estudo foram utilizados quatro gêneros de plantas aquáticas: *Spirodela* sp., *Landotia* sp., *Lemna* sp. pertencentes à família Araceae e *Azolla* sp. pertencente à família Salviniaceae (Figura 2). As plantas foram coletadas próximo ao Laboratório de fitopatologia do CCA-UFSC, SC 48°30'18.3"O 27°34'58.6"S sob-registro de coleta número 61236-1. Após a coleta, as plantas foram lavadas em água corrente para separação de partículas sólidas, como pedaços de rocha e insetos. A identificação foi realizada junto ao departamento de botânica da UFSC, com o professor Rafael Trevisan que pertence ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de fungos, Algas e plantas.

Figura 2 - Vista lateral (a) e superior (b) das plantas aquáticas *Lemna* sp., *Landotia* sp., *Spirodela* sp. e *Azolla* sp. (na devida ordem). Barras = 1 cm.

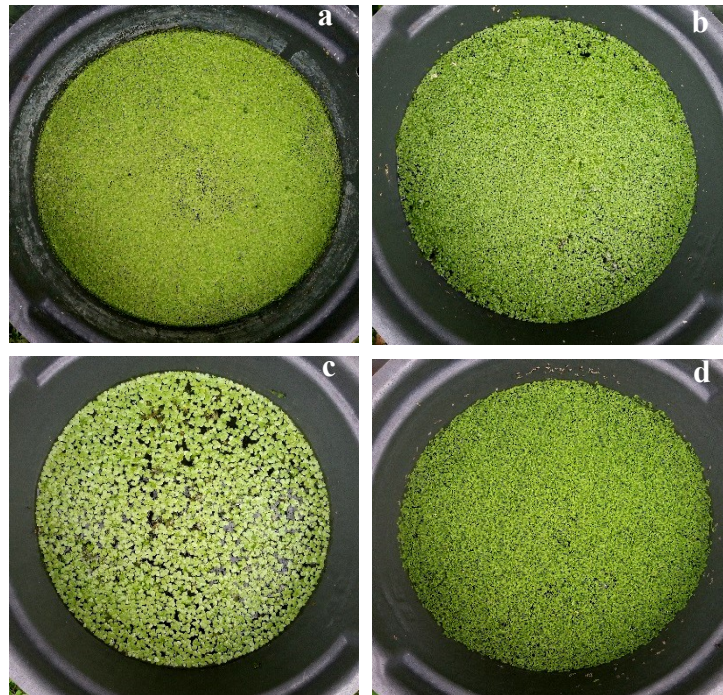


Fonte: desenvolvido pelo autor.

As plantas foram cultivadas ao ar livre a partir dos inóculos obtidos. Foram utilizados reservatórios (35 L, Fribratec, Brasil) de 39 cm de diâmetro, contendo 28 L de água e 150 mL de solução nutritiva hidropônica para folhosas Dripsol (Ca, N, P, K, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn, com 0,69; 0,93; 0,19; 1,2; 0,2; 0,3; 0,0015; 0,0007; 0,0075; 0,0025; 0,0002

e 0,004 g.L⁻¹, respectivamente). Posteriormente, 200 g de cada uma das plantas aquáticas (Figura 3) foram adicionadas nos reservatórios e mantidas durante 45 dias para adaptação ao sistema de cultivo. Após esse período, foi realizada a coleta da biomassa produzida semanalmente, deixando uma quantidade suficiente (aproximadamente 200 g) como inóculo para continuação do cultivo. Imediatamente após a coleta foi realizado a troca da solução nutritiva garantindo a manutenção e suprimento de nutrientes, mantendo o pH e a condutividade elétrica 6,0 e 1 mS, respectivamente. Os reservatórios foram protegidos com uma cobertura plástica transparente para evitar a diluição dos nutrientes pela água da chuva, sem impedir a penetração da luz solar.

Figura 3 - Cultivo de *Lemna* sp. (a), *Landotia* sp. (b), *Spirodela* sp. (c) e *Azolla* sp. (d) após 45 dias em reservatórios de 35 L.



Fonte: desenvolvido pelo autor.

O peso da matéria fresca, o peso da matéria seca e o rendimento das plantas aquáticas obtidas em cinco coletas (cinco semanas) durante os meses de abril e maio de 2018, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Rendimento de plantas aquáticas coletadas em Florianópolis/SC entre os meses de abril e maio de 2018.

Plantas aquáticas	Peso da matéria		Rendimento (%)
	fresca (g)	seca (g)	
<i>Landoltia</i> sp.	142,6	13,9	9,7 ± 1
<i>Lemna</i> sp.	51,1	4,3	8,5 ± 8
<i>Spirodela</i> sp.	87,3	10,5	11,6 ± 5,6
<i>Azolla</i> sp.	199,4	9,5	4,8 ± 0,3

± desvio padrão. Dados correspondem aos meses de abril/maio

Fonte: desenvolvido pelo autor.

3.4 Obtenção de extratos etanólicos

Após a coleta nos reservatórios, as plantas aquáticas e as folhas de *P. vulgaris* L. cv. Uirapuru foram pesadas, secas em estufa a 50 °C por 48 horas até peso constante. Em seguida, o material vegetal foi macerado em moinho analítico e o pó resultante mantido sob refrigeração (6 °C) até o momento da extração. Para a determinação do peso seco, 50 g de amostras secas de cada planta aquática foram submetidas a mais uma secagem a 105 °C por 48 horas.

Para a extração dos compostos, 3,5 g do pó seco de cada planta aquática e do feijoeiro foram adicionadas em 100 mL de etanol (92,8° INPM). As misturas foram mantidas em agitador orbital a 100 RPM por 24 horas (ABREU et al., 2008). Em seguida, os extratos foram filtrados usando papel filtro Qualy (n° 9) em funil de Buchner acoplado numa bomba de vácuo (Primastec, Brasil) e concentrado em evaporador rotativo (Quimis, Brasil) até remoção total do etanol. Posteriormente, as frações aquosas foram recolhidas, quantificadas e reservadas para a utilização nos ensaios.

3.5 Ensaios *in vitro*

Nos ensaios *in vitro*, todos os extratos brutos (item 4.4) foram esterilizados por filtração em membrana de 47 mm de diâmetro e porosidade de 0,22 µm para retenção de possíveis microorganismos contaminantes. As concentrações utilizadas foram baseadas no trabalho já realizado com a *Lemna* sp. por Abreu et al. (2005).

3.5.1 Crescimento micelial de *C. lindemuthianum*

Para testar o efeito dos extratos sobre o crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, os extratos esterilizados das plantas aquáticas e de *P. vulgaris* L. cv. Uirapuru foram adicionados ao meio de cultura BDA (fase líquida e resfriado até 55 °C) em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100 mg.mL⁻¹). Posteriormente, 20 mL de meio de cultura (pH 6,0) foram vertidos em placas de Petri de 90 mm. Após a solidificação do meio, um disco de 8 mm da cultura do fungo após 15 dias de incubação foi transferido para o centro e as placas foram incubadas em câmara de crescimento com temperatura de 21 °C ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas por 14 dias. O crescimento micelial foi determinado pela medida do diâmetro da colônia. Para tal, as placas de Petri foram riscadas em dois eixos perpendiculares com o auxílio de uma caneta de retroprojeter e às medidas tomadas com um paquímetro aos 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias após a transferência dos discos da cultura do patógeno. Foi registrado a média do diâmetro entre os eixos para cada repetição e expressa em mm. Para os ensaios de crescimento micelial foi considerado uma unidade experimental cada placa de Petri.

3.5.2 Germinação de conídios, formação e melanização de apressórios de *C. lindemuthianum*

Para a determinação do efeito *in vitro* dos extratos etanólicos sobre a germinação de *C. lindemuthianum*, ensaios sobre lâminas translúcidas de poliestireno foram realizados de acordo com metodologia modificada de Gonçalves & Stadnik (2012). Primeiramente, as lâminas de poliestireno foram lavadas em ADE e esterilizadas com radiação UV por 1h. Uma suspensão de conídios de *C. lindemuthianum* foi obtida e para a eliminação de possíveis inibidores da germinação, a suspensão foi lavada por meio de duas centrifugações a 25°C e 8.228 G por 15 minutos. Em seguida, a concentração de conídios foi ajustada para 1,2 × 10⁵ conídios.mL⁻¹. Três gotas de 10 µL da suspensão foram distribuídas sobre as lâminas e mais 10 µL do extrato esterilizado de cada planta aquática em diferentes concentrações (25, 50, 75 e 100 mg.mL⁻¹) foi acrescentado. A testemunha foi preparada apenas com a suspensão conidial e 10 µL de ADE. As lâminas foram depositadas no interior de placas de Petri sobre papel filtro umedecido com ADE e mantidas a 21 °C, 12h de fotoperíodo e 100 % de UR. Após 48 horas, 10 µL de uma solução contendo Azul de Aman (ácido láctico, fenol cristalino, água destilada na proporção de 1:1:1 (v/p/v) e azul de algodão 0,2 %) foram adicionados para a visualização das estruturas e paralização do crescimento fúngico.

Para a avaliação, 100 conídios por repetição foram contados e classificados de acordo com Gonçalves & Stadnik (2012) (Tabela 2). Foi considerado conídio germinado aquele que apresentava um tubo germinativo maior que a largura do próprio conídio, e apressório pedicelado aquele formado na extremidade de um tubo germinativo longo, ou seja, maior que 10 μm (ARAÚJO, 2010). As avaliações foram feitas mediante microscópio ótico (aumento 400x; Leica DM500, Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha).

Tabela 2 - Categorias com as estruturas emitidas pelo fungo *C. lindemuthianum* durante a germinação de conídios.

Grupo	Estruturas emitidas
A	Conídio não germinado
B	Conídio germinado sem apressório
C	Conídio com somente um apressório pedicelado
D	Conídio com um apressório pedicelado + um tubo germinativo
E	Conídio com um apressório pedicelado + dois ou mais tubos germinativos
F	Dois apressórios pedicelados
G	Dois apressórios pedicelados + um tubo germinativo
H	Conídio com três apressórios pedicelados

Fonte: Gonçalves & Stadnik (2012).

3.6 Tratamento das plantas

O efeito local e sistêmico dos tratamentos foi testado em plantas de feijoeiro. Para tal, plantas em estágio fenológico V3 (CIAT, 1987) com o primeiro trifólio completamente desenvolvido foram tratadas com os extratos, cerca de quinze dias após a semeadura. O segundo trifólio de cada planta foi coberto com saco plástico para avaliação do efeito sistêmico. As plantas foram pulverizadas 3 dias antes da inoculação com os extratos etanólicos das plantas aquáticas numa concentração de 50 mg de peso seco. mL^{-1} (ABREU et al., 2005), e com o indutor de resistência (controle positivo) comercial Acibenzolar-S-Metílico (Bion 500 WG[®]) obtido da Syngenta (São Paulo, Brasil) na dose de 0,05 mg. mL^{-1} (DE BORBA et al., 2018), a testemunha recebeu aplicação de ADE como apresentado na Tabela 3. A aspersão dos extratos foi realizada com pistola em motocompressor de ar até o ponto de escorrimento (aprox. 4 mL por planta). Os tratamentos foram dissolvidos em ADE sob agitação contínua em temperatura ambiente.

Tabela 3 - Tratamentos e concentrações utilizados no estudo do efeito de extratos etanólicos de plantas aquáticas no controle de *C. lindemuthianum* no feijoeiro.

Tratamentos	Concentração (mg.mL ⁻¹)
Testemunha ADE	-
Acibenzolar-S-metil (Bion [®])	0,05 (i.a)
Extrato etanólico <i>Lemna</i> sp.	50
Extrato etanólico <i>Landoltia</i> sp.	50
Extrato etanólico <i>Spirodela</i> sp.	50
Extrato etanólico <i>Azolla</i> sp.	50

Fonte: desenvolvido pelo autor.

3.7 Inoculação

O inóculo foi produzido segundo metodologia descrita por Talamini et al. (2004). Para isso, vagens verdes de feijoeiro parcialmente imersas em meio ágar-água (12 g.L⁻¹; 5 mL/tubo) no interior de tubos de ensaio foram esterilizadas duas vezes em autoclave a 120 °C por 1h, com intervalo de 24 horas entre as autoclavagens. Discos de micélio (8 mm de diâmetro) do fungo provenientes de colônias de 15 dias foram transferidos para as vagens. O fungo foi incubado a 25 °C e 12h de fotoperíodo por 15 dias para induzir a esporulação. Após a incubação, 10 mL de ADE foram adicionados no interior dos tubos e agitados para desprender os conídios. A suspensão foi filtrada em gaze dupla e ajustada a uma concentração de 1,2×10⁶ conídios.mL⁻¹ em hemacitômetro (GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2006). A inoculação foi realizada no primeiro e no segundo trifólio três dias após o tratamento com o auxílio de uma pistola em motocompressor de ar até o ponto de escorrimento (aprox. 4 mL por planta). Após a inoculação, as plantas foram acondicionadas em câmara úmida a 21 °C ± 3°C, e ~98 % de umidade relativa (UR) do ar por 48h. Posteriormente, as plantas retornaram às condições de casa-de-vegetação até a avaliação.

3.8 Avaliação da severidade

A antracnose do feijoeiro foi avaliada sete e doze dias após a inoculação. Para isso, foi utilizado a escala de notas de um a nove descrita por Rava et al. (1993) (Tabela 4).

Tabela 4 - Escala descritiva da severidade da antracnose do feijoeiro.

Notas	Descrição dos sintomas
1	Ausência de sintomas.
2	Até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptível somente na face inferior da folha.
3	Maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau 2, até 3% das nervuras afetadas.
4	Até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis em ambas as faces da folha.
5	Maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau 4, até 3% das nervuras atacadas
6	Manchas necróticas nas nervuras, perceptíveis em ambas as faces da folha, presença de algumas lesões nos talos, ramos e pecíolos.
7	Manchas necróticas na maioria das nervuras e grande parte do tecido do mesófilo adjacente rompendo-se. Presença abundante de lesões nos talos, ramos e pecíolos.
8	Manchas necróticas quase na totalidade das nervuras, ocasionando rompimento, desfolha, e redução do crescimento das plantas. Lesões muito abundantes nos talos, ramos e pecíolos.
9	Maioria das plantas mortas.

Fonte: Rava (1993).

3.9 Efeito dos extratos sobre a germinação de sementes e crescimento de plântulas de feijão

Foi testado o efeito dos extratos etanólicos de plantas aquáticas na germinação de sementes, comprimento de parte aérea, comprimento radicular e produção inicial de biomassa. Para tal, sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Uirapuru) foram lavadas com ADE por 15 min e embebidas nos extratos etanólicos (50 mg.mL⁻¹) ou em ADE (testemunha) por 4 horas a 25 °C, a fim de absorver as soluções. Assim, 100 sementes divididas em quatro repetições, foram colocadas equidistantemente em folhas de papel Germitest previamente umedecido com ADE, (equivalente a 2,5 vezes o seu peso seco), cobertas com uma folha de papel adicional, enroladas e acondicionadas em saco plástico. O conjunto contendo o papel e as sementes foi acondicionado no germinador a uma temperatura de 25 °C. As avaliações foram realizadas aos cinco e nove dias após a semeadura. Aos nove dias, após a avaliação do número de plântulas normais e sementes germinadas conforme as Regras para Análise de

Sementes - RAS (BRASIL, 2009), 10 plântulas normais foram escolhidas aleatoriamente por tratamento, para as medições do comprimento da parte aérea e da raiz principal, com auxílio de um paquímetro digital. Para a determinação da massa seca da parte aérea e radicular, as mesmas plântulas tiveram suas partes separadas e colocadas em sacos de papel para secar em estufa a $70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 72 horas.

3.10 Desenho experimental e análise estatística

Todos os experimentos foram conduzidos no delineamento completamente casualizado, com cinco repetições para os ensaios *in vivo* e *in vitro*, quatro repetições para germinação de sementes e dez repetições para os ensaios do comprimento, peso seco e fresco da parte aérea e raiz.

Para análise dos dados, foi verificada a existência de homogeneidade de variâncias e normalidade de resíduos através dos testes de Cochran e/ou Levene. Quando cumpridos os pressupostos, os dados foram submetidos a análise de regressão e variância (ANOVA), e as médias separadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para as análises de variância e regressão foi utilizado o software STATISTICA. Os dados do crescimento micelial e da germinação de conídios, formação e melanização de apressórios foram ajustados a modelos lineares e não lineares. Foram realizados dois experimentos independentes em diferentes tempos, com resultados similares. Os resultados apresentados correspondem à média dos dois experimentos.

4. RESULTADOS

4.1 Ensaio *in vitro*

4.1.1 Crescimento micelial de *C. lindemuthianum*

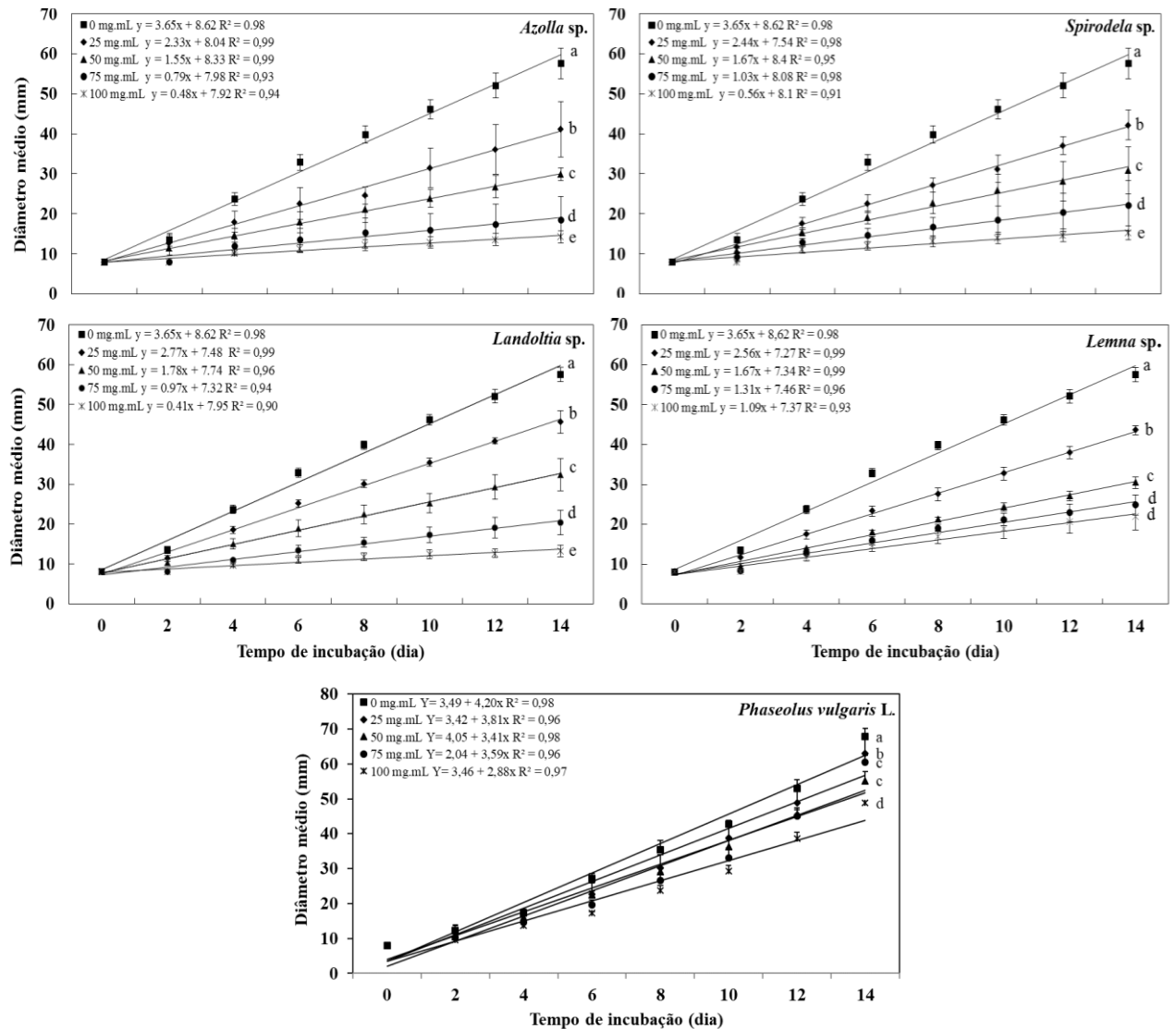
O diâmetro médio (mm) das colônias em todos os tratamentos obteve um melhor ajuste pelo modelo de regressão linear que apresentou os maiores coeficientes de determinação e melhor distribuição dos resíduos.

O crescimento micelial do fungo foi significativamente reduzido com a utilização dos extratos etanólicos das plantas aquáticas, independente da sua concentração e especialmente nas concentrações maiores. Sendo assim, quanto maior a concentração dos extratos etanólicos, menor a velocidade do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*. Os extratos etanólicos de *Landoltia* sp., *Spirodela* sp. e *Azolla* sp. mostraram diferenças significativas entre as médias em todas as concentrações. Contudo, o extrato etanólico da *Lemna* sp. não mostrou diferença entre as concentrações de 75 e 100 mg.mL⁻¹ (Figura 4).

Os extratos de *Spirodela* sp. e *Azolla* sp. foram capazes de reduzir cerca de 28 % a taxa de crescimento micelial do fungo na menor concentração (25 mg.mL⁻¹) quando comparados com a testemunha, que aos 14 dias apresentou um diâmetro médio de colônia de 56 mm. O extrato etanólico com maior redução do crescimento micelial foi o da *Landoltia* sp. na concentração de 100 mg.mL⁻¹, que reduziu cerca de 76 %, seguido da *Azolla* sp. com 75%.

O extrato etanólico de *P. vulgaris* L. cv. Uirapuru também reduziu significativamente o crescimento micelial em todas as concentrações, entretanto a redução foi ainda maior para os extratos das plantas aquáticas. As concentrações de 50 e 75 mg.mL⁻¹ do extrato de *P. vulgaris* L. cv. Uirapuru não mostraram diferença significativa, apresentando coeficientes angulares de 3,41 e 3,59 mm por dia respectivamente.

Figura 4 - Diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivado em meio BDA com diferentes concentrações de extratos etanólicos de plantas aquáticas e de *Phaseolus vulgaris* L. cv. Uirapuru (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.



As letras indicam diferença significativa entre as concentrações em cada tratamento, conforme teste (Tukey, $P \leq 0,05$). Barras representam os desvios padrão das médias. Os dados correspondem à média de dois experimentos.

Fonte: desenvolvido pelo autor.

As médias dos coeficientes angulares dos tratamentos com extratos etanólicos de plantas aquáticas na concentração 50 mg.mL⁻¹ não apresentaram diferenças estatísticas quando comparadas entre si. Por outro lado, o extrato etanólico de *Lemna* sp. na concentração 25 mg.mL⁻¹ mostrou diferença quando comparado com os extratos etanólicos de *Spirodela* sp. e *Azolla* sp., indicando que nesta concentração o extrato etanólico de *Lemna* sp. adicionado ao meio de cultura BDA, aumenta a velocidade do crescimento em (mm) da colônia de *C. lindemuthianum*, em 17 e 12 %, respectivamente a cada dia (Tabela 5).

Tabela 5 - Coeficientes angulares obtidos nas regressões do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA nas concentrações de 25 e 50 mg.mL⁻¹ dos extratos etanólicos de plantas aquáticas.

Tratamentos	Concentrações (mg.mL ⁻¹)	
	25	50
<i>Lemna</i> sp.	2,77 ± 0,14 b	1,76 ± 0,25 a
<i>Landoltia</i> sp.	2,56 ± 0,06 ab	1,66 ± 0,10 a
<i>Spirodela</i> sp.	2,32 ± 0,11 a	1,54 ± 0,12 a
<i>Azolla</i> sp.	2,46 ± 0,31 a	1,66 ± 0,36 a

Letras minúsculas na coluna indicam diferença significativa conforme teste (Tukey, P≤0,05). (±) = desvio-padrão;

Fonte: desenvolvido pelo autor.

Todas as colônias de *C. lindemuthianum* apresentaram coloração variando de cinza-claro e, com o passar do tempo de incubação, de cinza-escuro a negra, exceto placas que receberam o extrato etanólico de *Landoltia* sp., nas concentrações de 25 e 50 mg.mL⁻¹, em meio de cultura BDA, que apresentaram colônias com pigmentação rosa salmão - Cream, ochre (1345) (RHOADES, 2014) como mostra a Figura 5.

Figura 5 - Colônias de *C. lindemuthianum* após 14 dias de incubação em meio BDA com diferentes concentrações de extratos etanólicos de plantas aquáticas e de *Phaseolus vulgaris* L. cv. Uirapuru (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹).



Fonte: desenvolvido pelo autor.

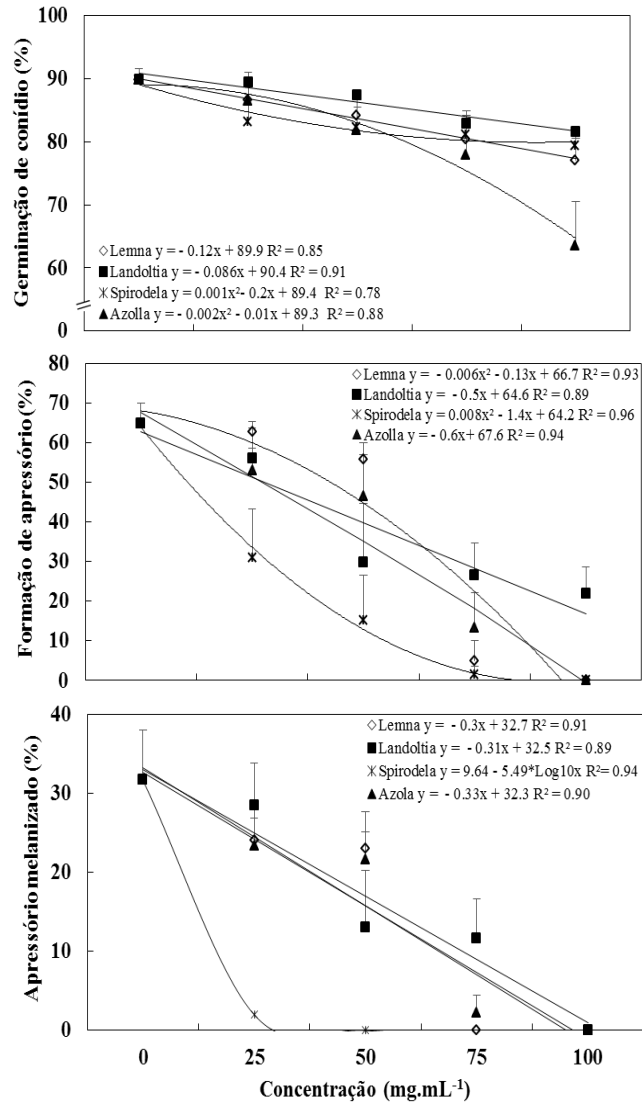
4.1.2 Germinação de conídios, formação e melanização de apressórios de *C. lindemuthianum*

A germinação de conídios nos tratamentos com *Lemna* sp. e *Landoltia* sp. ajustaram-se ao modelo de regressão linear, já *Spirodela* sp. e *Azolla* sp. ajustaram-se ao modelo quadrático. Todas as concentrações afetaram a germinação de conídios, porém, os extratos etanólicos de *Azolla* sp. e *Lemna* sp. na concentração de 100 mg.mL⁻¹ obtiveram redução de 30 e 14 %, respectivamente, comparando com a testemunha. Na menor concentração testada (25 mg.mL⁻¹), o extrato etanólico de *Landoltia* sp. obteve a menor taxa de redução da germinação dos conídios (1%).

Para a formação de apressório, os tratamentos com extratos etanólicos de *Lemna* sp. e *Spirodela* sp. ajustaram-se ao modelo de regressão quadrático, já o tratamento com extrato etanólico de *Landoltia* sp. e *Azolla* sp. ajustaram-se ao modelo linear. Todos os extratos etanólicos de plantas aquáticas afetaram a taxa de formação dos apressórios de *C. lindemuthianum*. Na maior concentração testada (100 mg.mL⁻¹) houve inibição total na taxa de formação de apressório, nos tratamentos com extratos etanólicos de *Lemna* sp., *Spirodela* sp. e *Azolla* sp., após 48 horas de incubação. O extrato etanólico com maior taxa de redução em todas as concentrações foi o de *Spirodela* sp. que na menor concentração testada (25 mg.mL⁻¹) reduziu cerca de 47 % a formação dos apressórios. A menor taxa de redução na formação dos apressórios foi encontrada na concentração de 25 mg.mL⁻¹ com o extrato etanólico de *Lemna* sp., cerca de 3 %, quando comparado com a testemunha.

A formação de apressório melanizado nos tratamentos com extratos etanólicos de *Lemna* sp., *Landoltia* sp., e *Azolla* sp. ajustaram-se ao modelo de regressão linear, já o tratamento com o extrato etanólico de *Spirodela* sp. ajustou-se ao modelo de regressão logarítmica. Sendo assim, quanto maior a concentração dos extratos etanólicos das plantas aquáticas, menor a taxa de melanização dos apressório de *C. lindemuthianum*. O extrato etanólico de *Landoltia* sp. na concentração de 25 mg.mL⁻¹ reduziu em 10 % a taxa de melanização dos apressórios. A concentração de 100 mg.mL⁻¹ em todos os tratamentos inibiu a melanização dos apressórios como mostra a Figura 6, entretanto, o extrato etanólico de *Spirodela* sp. inibiu a melanização dos apressórios em todas as concentrações.

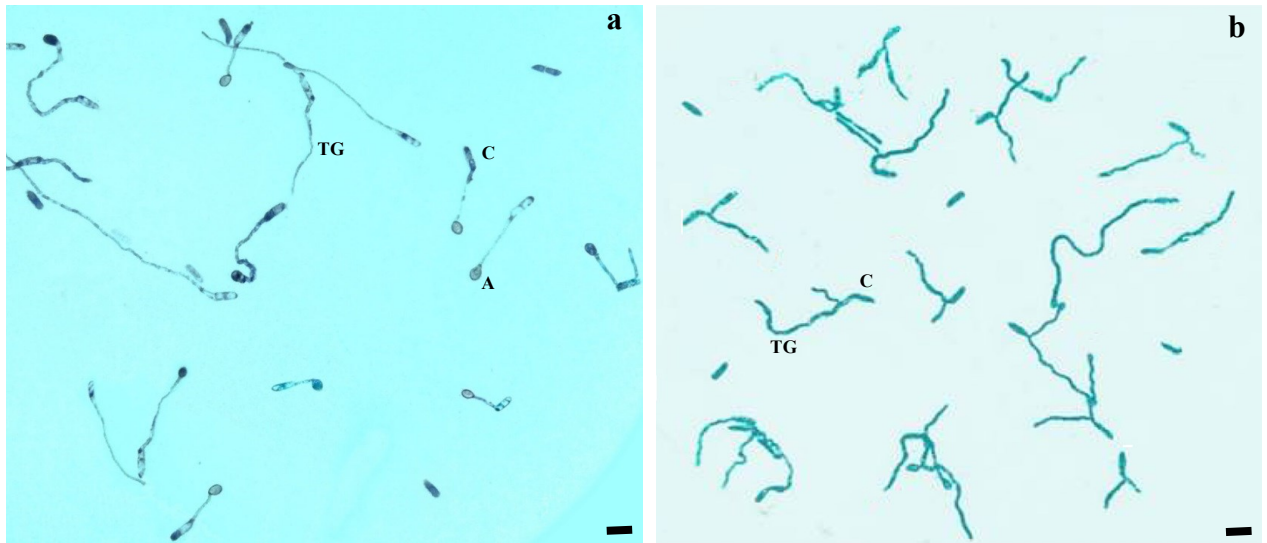
Figura 6 - Germinação de conídios de *C. lindemuthianum* na presença de extratos etanólicos de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹), na porcentagem de germinação de conídios, formação de apressório e apressório melanizado de *C. lindemuthianum* após 48 horas de incubação.



Barras representam o desvio padrão da média. Os dados correspondem à média de dois experimentos.
Fonte: desenvolvido pelo autor.

O extrato de *Spirodela* sp. além de inibir a melanização dos apressórios em todas as concentrações testadas, alterou a morfologia dos tubos germinativos, os quais apresentaram espessura duas vezes maior quando comparado com a testemunha (Figura 7).

Figura 7 - Estruturas pré-infectivas de *C. lindemuthianum* após 48 de incubação em lâminas de poliestireno: testemunha (a), extrato de *Spirodela* sp. 100 mg.mL⁻¹(b).



Abreviaturas: apressório (A), conídio (C) e tubo germinativo (TG). Barras = 10 µm.
Fonte: desenvolvido pelo autor.

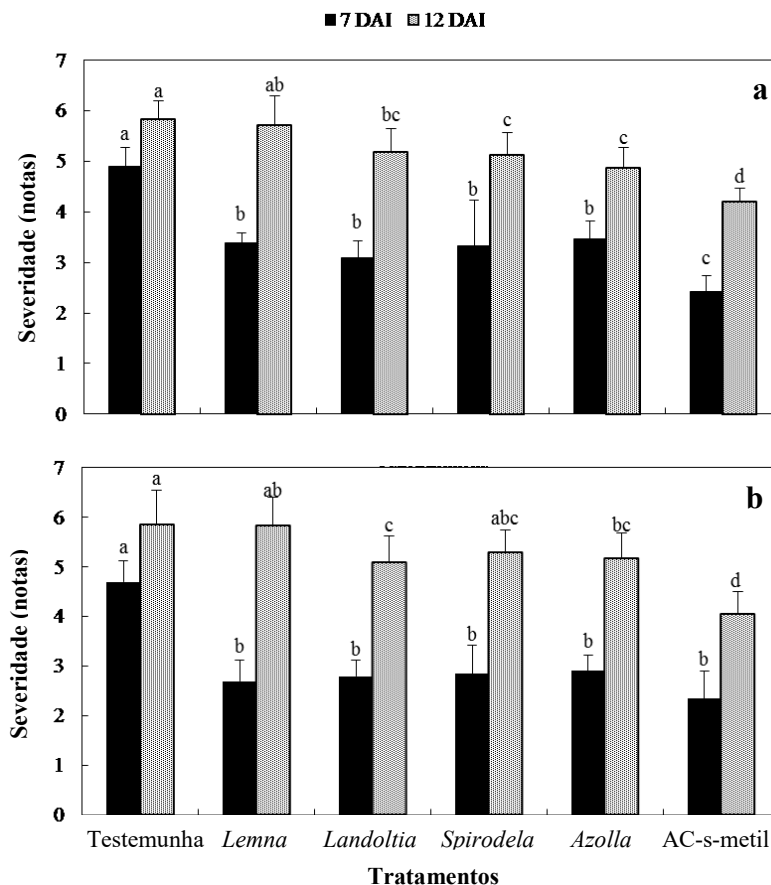
4.2 Efeito local e sistêmico dos extratos de plantas aquáticas sobre plantas de feijão

Os primeiros sintomas da antracnose apareceram aos 5 dias após a inoculação com *C. lindemuthianum*. A severidade da antracnose no primeiro trifólio (efeito local) de plantas pulverizadas com ADE (Testemunha), 7 dias após a inoculação, atingiram em média nota 5 (Figura 8). Apresentando manchas necróticas, perceptíveis em ambas faces da folha. Os extratos etanólicos de *Lemna* sp., *Azolla* sp., *Spirodela* sp. e *Landoltia* sp. diferiram estatisticamente da testemunha, entretanto o tratamento com o Bion[®] obteve maior diferença, apresentou uma redução de 50 % da severidade da antracnose aos 7 dias após a inoculação. Aos 12 dias após a inoculação plantas pulverizadas com ADE (Testemunha), atingiram nota 6 em média, apresentando manchas necróticas nas nervuras, perceptíveis em ambas as faces da folha, presença de poucas lesões nos ramos e pecíolos. Houve redução significativa de severidade da doença em plantas pulverizadas com extratos etanólicos de *Landoltia* sp., *Spirodela* sp., *Azolla* sp. e o Bion[®], apresentando uma redução da severidade da antracnose de 10, 11, 16 e 28 % respectivamente em relação à testemunha. Apenas o tratamento com o extrato etanólico de *Lemna* sp. não diferiu estatisticamente quando comparado com a testemunha.

Para a avaliação da severidade da antracnose no segundo trifólio (efeito sistêmico) aos 7 dias após a inoculação, plantas pulverizadas com ADE (testemunha) atingiram em média nota 4,7. Todos os tratamentos com extratos etanólicos de plantas aquáticas reduziram

significativamente a severidade da antracnose quando comparados com a testemunha, após 7 dias da inoculação, apresentando até 43% de redução (Figura 8). O Bion[®] proporcionou uma redução da severidade da antracnose de 50 %. Esta redução significativa da doença não foi, no entanto, mais observada em plantas tratadas com os extratos etanólicos de *Lemna* sp. e *Spirodela* sp., aos 12 dias após inoculação. O efeito permaneceu significativo apenas para os extratos etanólicos de *Landoltia* sp. e *Azolla* sp. com redução de 13 e 10 % respectivamente. O Bion[®] novamente obteve maior redução de severidade sistêmica, cerca de 30%.

Figura 8 - Efeito local (a) e sistêmico (b) dos extratos etanólicos de *Lemna* sp., *Landoltia* sp., *Spirodela* sp., *Azolla* sp. (50 mg.mL⁻¹) e Bion[®] (0,05 mg.mL⁻¹) na severidade da antracnose (*C. lindemuthianum*) avaliada aos 7 e 12 dias após a inoculação em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Uirapuru).



Médias com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Barras representam os desvios padrão das médias. Os dados correspondem à média de dois experimentos.
Fonte: desenvolvido pelo autor.

4.3 Efeito dos extratos sobre a germinação de sementes e crescimento de plântulas de feijão

A germinação das sementes de feijão no tratamento com ADE (testemunha) foi de 75 % após nove dias de incubação. As médias de germinação não diferiram estatisticamente em todos os tratamentos com extratos etanólicos de plantas aquáticas (50 mg.ml⁻¹), assim como para porcentagem de plântulas normais, que no tratamento com ADE (testemunha) obteve média de 90 % após nove dias de incubação (Tabela 6).

Tabela 6 - Porcentagem de germinação de sementes e plântulas normais de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. IPR Uirapuru, submetidas a diferentes tratamentos com extratos etanólicos de plantas aquáticas (50 mg.mL⁻¹).

Tratamentos	Germinação (%)	Plântulas normais (%)	Tukey (P≤0,05)
Testemunha	75,5	90,5	ns
<i>Lemna</i> sp.	81,3	91	ns
<i>Landoltia</i> sp.	79,5	94	ns
<i>Spirodela</i> sp.	75,8	88	ns
<i>Azolla</i> sp.	76,3	92	ns
CV %	5,8	4,16	

ns = não significativo pelo teste de Tukey (P≤0,05). Os experimentos foram repetidos duas vezes de forma independente.

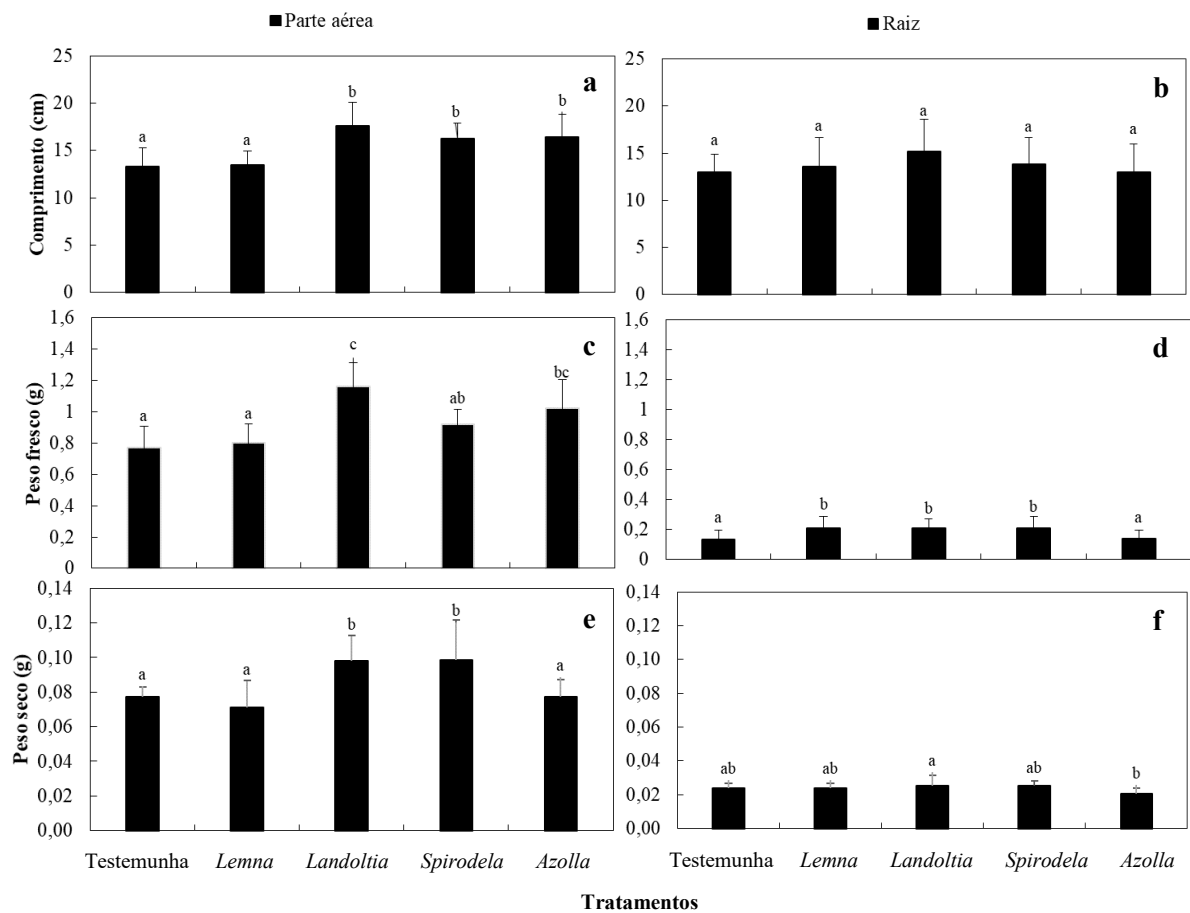
Fonte: desenvolvido pelo autor.

A embebição de sementes na solução com extratos etanólicos de *Spirodela* sp., *Azolla* sp. e *Landoltia* sp. aumentou o comprimento da parte aérea em 24, 26 e 31 % respectivamente, enquanto o extrato etanólico de *Lemna* sp. não apresentou efeito (Figura 9). O comprimento da raiz não foi significativamente afetado em nenhum dos tratamentos quando comparados com a testemunha, que apresentou plântulas de 13 cm de comprimento, após nove dias de incubação.

Sementes de feijão que foram embebidas em ADE (testemunha), apresentaram peso fresco de parte aérea de 0,77 g, após nove dias de incubação. Entretanto sementes embebidas nos extratos etanólicos de *Azolla* sp. e *Landoltia* sp. apresentaram 1,02 g e 1,16 g, registrando um aumento de 32 e 50 % respectivamente, do peso fresco das plântulas de feijão. O peso fresco das raízes no tratamento com ADE (testemunha), registou média de 0,13 g. No entanto, sementes embebidas nos extratos etanólicos de *Spirodela* sp., *Landoltia* sp. e *Lemna* sp. registraram médias de peso fresco das raízes de 0,21 g, aumento de 61 % em relação a testemunha. Para o peso seco da parte aérea nos tratamentos com sementes embebidas em

extratos etanólicos de *Spirodela* sp. e *Landoltia* sp. houve um incremento na matéria seca de 28 % quando comparado com a testemunha, que obteve média de 0,07 g de peso seco de parte aérea. Entretanto o peso seco das raízes em sementes que foram embebidas com água (testemunha), após 9 dias de incubação, obtiveram médias de 0,02 g, apenas o extrato de *Azolla* sp. apresentou diferença estatística quando comparado com a testemunha.

Figura 9 - Germinação de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. IPR Uirapuru 9 dias após serem embebidas em tratamentos com extratos etanólicos de *Lemna* sp., *Landoltia* sp., *Spirodela* sp., *Azolla* sp. (50 mg.mL⁻¹). Comprimento parte aérea (a), comprimento raiz (b), peso fresco parte aérea (c), peso fresco raiz (d), peso seco parte aérea (e) e peso seco raiz (f) de plântulas de feijão *Phaseolus vulgaris* cv. IPR Uirapuru.



Médias com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Barras representam os desvios padrão das médias. Os experimentos foram repetidos duas vezes de forma independente.

Fonte: desenvolvido pelo autor.

5. DISCUSSÃO

Constatou-se ação antifúngica sobre o crescimento micelial, germinação de conídios, formação de apressório e apressório melanizado de *C. lindemuthianum* em todos os extratos etanólicos.

Assim, observou-se que quanto maior a concentração de extrato usado, maior os índices de inibição. Logo, os melhores resultados foram encontrados na concentração de 100 mg.mL⁻¹ dos extratos etanólicos. Similarmente, Milanesi et al. (2009) verificaram maior eficiência na redução do crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* com as maiores concentrações (20 e 25%) do extrato de carqueja. Di Piero & Garda (2008) também encontraram maior inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum* com o aumento da concentração de quitosana, evidenciando um efeito dose-dependente de elicitor.

O extrato de *P. vulgaris* L. cv. Uirapuru também mostrou efeito inibitório no crescimento micelial de *C. lindemuthianum* em todas as concentrações. Assim, as altas concentrações dos extratos podem ter alterado o potencial osmótico do meio de cultivo, o que pode mascarar os efeitos dos compostos fitotóxicos sobre o crescimento micelial do fungo. Os agentes osmóticos ao serem adicionados ao meio atuam gerando um estresse hídrico pelo aumento da concentração osmótica, influenciando desta forma o crescimento micelial *in vitro*. Esse efeito deve-se possivelmente à redução na capacidade de absorção de água e de nutrientes do meio de cultura (LEMOS et al., 2002; PEREIRA NETO e OTONI, 2003). Estudos realizados por Inch & Trinci (1987) mostraram redução na germinação e no crescimento micelial com diminuição da atividade de água para os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana*, *Mefarhizium anisopliae*, *Paecilomyces* spp. e *Verticillium lecanii*, essa redução foi atribuída ao aumento das necessidades de energia para osmoregulação.

Nenhum dos extratos inibiu completamente a germinação dos conídios de *C. lindemuthianum*. A maior redução foi de 30 % para as maiores concentrações testadas. Resultados semelhantes foram relatados por Fernandes (2007), o tratamento com ulvana reduziu a germinação *in vivo* de conídios de *C. lindemuthianum* e de esporos de *Puccinia graminis*, fungo causador da ferrugem em plantas de trigo (STADNIK; EL-GUEDDARI; MOERSCHBACHER, 2005). Entretanto, em estudos realizados por Abreu et al. (2005) o extrato etanólico de *Lemna* sp. na concentração de 50 mg.mL⁻¹ inibiu totalmente a germinação de conídios de *C. lindemuthianum*. Duas hipóteses poderiam explicar a discrepância entre os resultados encontrados: 1) as diferentes metodologias utilizadas para a extração dos compostos, sendo que Abreu et al. (2005) realizaram a extração dos compostos bioativos em

placas de Petri mantidas sob fluxo contínuo de ar. Entretanto neste estudo a extração foi realizada mediante evaporador rotativo a vácuo. 2) a origem das plantas aquáticas, o que também poderia afetar quantitativamente e qualitativamente os metabólitos obtidos a partir do material vegetal. Sob o ponto de vista químico os compostos extraídos podem sofrer a influência de diversos fatores. Dentre esses, a natureza do vegetal, o solvente empregado na extração, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração (SHAIDI & NACZK, 1995). As plantas aquáticas utilizadas neste estudo são encontradas em corpos de água doce ricos em matéria orgânica, geralmente ambientes eutrofizados (LANDOLT & KANDELER, 1987). Assim, essas plantas são acumuladoras e/ou hiperacumuladoras que podem absorver nutrientes, metais pesados, fenóis, pesticidas, entre outros contaminantes (PRASAD et al., 2001; LASAT, 2002). Em contraste, neste estudo as plantas aquáticas utilizadas foram cultivadas sob condições nutricionais controladas para evitar a contaminação por compostos exógenos e a obtenção de extratos com composição mais estável.

O extrato etanólico de *Spirodela* sp. apresentou a maior redução na formação de apressórios de *C. lindemuthianum*. Similarmente, o extrato de *Spirodela polyrrhiza* que exerceu um forte efeito *in vitro* sobre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Agrobacterium* sp. (XIE et al., 2014).

Todos os extratos inibiram a melanização dos apressórios na maior concentração testada. Sabe-se que a melanização do apressório de fungos como o *Colletotrichum* sp. é essencial para o sucesso da infecção, sendo que o fungo penetra diretamente a cutícula do hospedeiro (LUDWIG et al., 2014).

O extrato etanólico de *Spirodela* sp. inibiu a melanização dos apressórios em todas as concentrações, porém, nas menores ainda foi possível observar a germinação de conídios e a formação de apressórios. Como já relatado por Kurahashi et al. (1998) e Jacobson (2000), compostos antimicrobianos podem inibir a síntese de melanina sem afetar a germinação de conídios e o número de apressórios formados. Além disso, o extrato etanólico de *Spirodela* sp. alterou a morfologia dos tubos germinativos. Alterações semelhantes foram relatadas por Fernandes et al. (2014) após a exposição a compostos antifúngicos, a *Alternaria infectoria* mostrou anormalidades estruturais da hifa, assim como a formação de células inchadas e semelhantes a balões. Verwer et al. (2012) também relataram hifas curtas, grossas e altamente ramificadas em *Aspergillus fumigatus* quando exposto a um composto antifúngico.

O efeito direto dos extratos *in vitro* mostrou uma sinergia entre o potencial osmótico devido à alta concentração dos extratos e a capacidade inibitória dos compostos extraídos das plantas. As plantas produzem metabólitos secundários que podem conferir diversas vantagens,

tais como: a diminuição da herbívoros, o aumento da tolerância a estresses abióticos e o controle de microorganismos (ARAÚJO, 1996; RODRIGUES e DIAS FILHO, 1996; PEREIRA, 1993). Esses compostos pertencem a várias classes distintas de substâncias químicas, como alcalóides, terpenos, flavonóides, cumarinas, benzenóides, quinonas, xantonas, esteróides, entre outras (DI STASI, 1996). Dentre essas, glicosídeos, terpenóides, carboidratos, taninos, flavonóides, esteróides, fenóis e antraquinonas foram detectados em extratos metanólicos e etanólicos de *Azolla caroliniana* (NAYAK; PADHY; SINGH, 2015). Similarmente, flavonoides foram identificados em extratos etanólicos de plantas dos gêneros *Spirodela* sp., *Lemna* sp. e *Landoltia* sp.. Estes compostos apresentaram diferentes graus de atividade antimicrobiana contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Agrobacterium* sp. (XIE et al., 2014).

Os extratos etanólicos de *Lemna* sp., *Azolla* sp., *Spirodela* sp. e *Landoltia* sp. mostraram efeito local aos 7 DAI, porém, esse efeito não persistiu para o extrato de *Lemna* sp. aos 12 DAI. A redução da severidade variou entre 27 e 36 % em plantas tratadas com os extratos quando comparado à testemunha. Abreu et al. (2005) mostraram que o extrato etanólico de *Lemna* sp. não apresentou efeito local contra a antracnose. Tal fato poderia ser explicado pela possível degradação dos compostos bioativos que atuaram na redução da doença. O extrato etanólico de *Landoltia* sp. reduziu a severidade da antracnose cerca de 36 % (efeito local) quando aplicado em plantas de feijão aos 7 DAI. Resultados semelhantes foram obtidos por Paulert et al. (2009), que relataram uma redução de 38 % na severidade da antracnose em plantas de *P. vulgaris* previamente tratadas com ulvana. Propriedades antimicrobianas do extrato das plantas aquáticas foram relatadas contra outros microorganismos, como *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Agrobacterium* sp. (XIE et al., 2014), *Aspergillus fumigatus* e *Fusarium oxysporium* (EFFIONG; SANNI, 2010). Assim, o efeito local observado poderia ser explicado pelas propriedades antifúngicas dos extratos. O efeito direto dos extratos impediria o desenvolvimento de *C. lindemuthianum* no tecido vegetal e, conseqüentemente, o progresso da doença na planta. Por sua vez, a pulverização com o Bion[®] proporcionou maior redução na severidade da antracnose aos 7 e aos 12 DAI, quando comparado com os demais tratamentos. Sabe-se que o Bion[®] não possui ação direta sobre os patógenos, porém, pode ser rapidamente absorvido pelos tecidos foliares e ativar a resistência sistemática e interferir nos processos fisiológicos e bioquímicos das plantas (DEBONA et al., 2009).

Todos os extratos etanólicos das plantas aquáticas apresentaram efeito sistêmico aos 7 DAI. Assim, além da possível atuação antifúngica, os resultados indicam uma possível

ativação dos mecanismos de defesa no feijoeiro. A redução da severidade tanto local como sistêmico também foi encontrada em estudos em plantas de pepino tratadas com extratos de cogumelos (*L. edodes*) contra *Colletotrichum lagenaria* (DI PIERO & PASCHOLATI, 2004). Aos 7 DAI, o extrato de *Lemna* sp. proporcionou maior redução na severidade, cerca de 42%. Resultados similares foram mostrados por Abreu et al. (2008), o extrato etanólico de *Lemna* sp. reduziu a severidade em 55 % quando pulverizado preventivamente em plantas de feijoeiro aos 7 DAI.

O efeito sistêmico permaneceu significativo para os extratos etanólicos de *Landoltia* sp. e *Azolla* sp. com uma redução de 13 e 11 %, respectivamente. No entanto, o efeito não foi mais observado em plantas tratadas com os extratos etanólicos de *Lemna* sp. e *Spirodela* sp. aos 12 DAI. Esses resultados podem estar relacionados com mudanças no metabolismo das plantas que podem vir a suprimir componentes bioquímicos da resistência, como já observado por Stadnik e Buchenauer (2000). Além disso, a resistência sistêmica geralmente é caracterizada por uma menor eficiência e durabilidade (STADNIK & MARASCHIN, 2004; FERNANDES, 2007). No melhor do nosso conhecimento, este é o primeiro relato do efeito sistêmico do extrato de *Landoltia* sp. e *Azolla* sp. sobre a antracnose do feijoeiro. Porém, mais estudos são necessários para elucidar o mecanismo de ação destes extratos e a sua composição.

O Bion[®] proporcionou uma redução da severidade da antracnose de 50 % aos 7 DAI e cerca de 30 % aos 12 DAI quando avaliado o efeito sistêmico. A indução de resistência proporcionada pelo Bion[®] é de fato já conhecida. Assim, resultados semelhantes foram observados por Bigirimana (2002) onde o Bion[®] induziu resistência local e sistêmica em feijoeiro contra *C. lindemuthianum* quando aplicado 3 dias antes da inoculação.

Os extratos etanólicos de *Azolla* sp., *Spirodela* sp. e *Landoltia* sp. proporcionaram um aumento do comprimento da parte aérea das plantas de feijoeiro. Os tratamentos aumentaram cerca 1,5 até 4 cm a parte aérea das plantas, apresentando um aumento de até 50 % no crescimento quando comparado à testemunha. Similarmente, o peso fresco das raízes de plântulas tratadas com o extrato de *Lemna* sp., *Spirodela* sp. e *Landoltia* sp. foi maior. As plantas mostraram um aumento de até 61 % nesta variável.

Nenhum tratamento afetou negativamente o desenvolvimento das plantas de feijoeiro. Estudos comprovam que extratos de algas, tais como, *Ascophyllum nodosum*, *Corallina pilulifera*, *Enteromorpha* sp., *Laurencia papillosa*, *Gracilaria* spp., *Lithothamnion corallioides*, entre outras, promovem o crescimento vegetal (YAN, 1999; ALLEN et al., 2001; ZEMKE WHITE e OHNO, 1999). As algas, assim como as plantas aquáticas,

representam uma fonte natural e abundante de moléculas com alguma atividade biológica. Estas plantas além de conter flavonóides como vitexina, apigenina e luteolina (YUN et al., 1999) apresentam macro e micronutrientes, tais como, N, Mg, K, P, Cu, Zn (MKANDAWIRE e DUDEL, 2007) e aminoácidos essenciais (ZHAO et al., 2015), todos eles necessários para o desenvolvimento e o crescimento das plantas. A ação conjunta dessas moléculas e nutrientes poderia desencadear um efeito bioestimulante.

A forma de aplicação dos tratamentos também poderia ter influenciado os resultados obtidos. Castro et al. (1985) relataram que a aplicação de fitormônio via semente é mais eficaz que a aplicação via foliar, pois além de evitar a fitotoxicidade destes produtos quando aplicados tardiamente, pode possibilitar a quebra da dormência, uniformidade na emergência e modificações morfológicas e fisiológicas nas plântulas.

A utilização dos extratos das plantas aquáticas como medida alternativa aos fungicidas, para o controle de doenças de plantas, poderá representar uma nova aplicação econômica para as plantas, já que são facilmente encontradas e produzem alta taxa de biomassa, o que viria a facilitar sua possível utilização na agricultura.

Seria interessante em estudos futuros investigar os ganhos em produtividade da aplicação dos extratos. Além disso, fracionar e caracterizar/identificar as frações biologicamente ativas dos extratos de plantas aquáticas.

6. CONCLUSÃO

Os extratos de plantas aquáticas apresentaram uma redução dose-dependente no crescimento micelial, germinação de conídios, formação e melanização de apressório de *C. lindemuthianum*.

A pulverização foliar dos extratos de plantas aquáticas reduziu a severidade local e sistêmica de *C. lindemuthianum* em plantas de feijão.

Os extratos de *Spirodela* sp. e *Landoltia* sp. estimularam o crescimento das plantas e o incremento de matéria seca.

7. REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, G.; E AERI, V. A preliminary examination of the phytochemical profile of *azolla microphyllawith* respect to seasons. **Asia Pac Biomed**, 2 Suppl (2012) 1392.
- ABREU, G. F. **Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)** / Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, UFSC, 2005. 80p.
- ABREU, G.F.; TALAMINI, V.; STADNIK, M.J. **Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose do feijoeiro.** *Summa Phytopathologica*, v.34, n.1, p.78-82, 2008.
- ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; KELLY, J. D.; GEPTS, P. Prebreeding in common bean and use of genetic diversity from wild germplasm. **Crop Science**, v. 47, p. S44-S59, 2007.
- AFONSO, S. M. E. Caracterização físico-química e atividade antioxidante de novas variedade de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). 2010. 44 p. **Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar)** – Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2010.
- AGRIOS, G. N. (Ed.). **Plant Pathology**. San Diego: Academic Press, 2005. 635p.
- AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em:. Acesso em: 20 fev 2019.
- ALBUQUERQUE, A. A. R. N.; ALBUQUERQUE, T. C. S. Cultivo da couve em substrato fertirrigado com aplicações de organominerais. 2008. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/CPATSA/38881/1/OPB1909.pdf>>. Acesso em: 02 mar. 2019.
- ALLEN, V. G.; POND, K. R.; SAKE, K. E.; FONTENOT, J. P.; BAGLEY, C. P.; IVY, R. L.; EVANS, R. R.; SCHMIDT, R. E.; FIKE, J. H.; ZHANG, X.; AYAD, J. Y.; BROWN, C. P.; MILLER, M. F.; MONTGOMERY, J. L.; MAHAN, J.; WESTER, D. B.; MELTON, C. Tasco: Influence of a brown seaweed on antioxidants in forages and livestock – a review. **J. Anim. Sci.**, v. 79 (suppl. E), p. 21-31, 2001.
- AL-NOZAILY1, F. ALAERTS, G., VEENSTRA, S. Performance of duckweed-covered sewage lagoon - Oxygen balance and cod removal. **Water. Research.** v. 34, n.10, p. 2727-2733, 2000.
- ARAÚJO, L. (2010). Mecanismos de resistência inata e induzida por ulvana à infecção de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., agente causal da Mancha Foliar de Glomerella em macieira (*Malus domestica* Borkh.). **Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina**. Florianópolis SC, Brasil.
- AZIZ, A.; POINSSOT, B.; DAIRE, X.; ADRIAN, M.; BÉZIER, A.; LAMBERT, B.; JOUBERT, J.M.; PUGIN, A. Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopora viticola*. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v.16, p. 1118-1128, 2003.

- BAILEY, J.A.; O'CONNELL, R.J.; PRING, R.J.; NASH, C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: BAILEY, A. J.; JEGER, J. M. **Colletotrichum: biology, pathology and control**. Oxford: British Society for Plant Pathology, 1992. p.88-120.
- BALARDIN, R.S.; PASTOR-CORRALES, M.A.; OTOYA, M.M. Variabilidade patogênica de *Colletotrichum lindemuthianum* no Estado de Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**. 15. 1990. p.243-245.
- BEEBE, S. E.; PASTOR-CORRALES, M. Breeding for disease resistance. In: VAN SCHOONHOVEN, A.; VOYSEST, O. **Common beans: Research for crop improvement**. Wallingford: CAB/CIAT, 1991. p. 561-610.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 376 - 399.
- BIGIRIMANA, J. & HOFTE, M. Induction of systemic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in bean by a benzothiadiazole derivate and rhizobacteria. **Phytoparasitica** 30 (2): 158-168. 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV. 2009. 365p.
- BROUGHTON W. J, HERNANDEZG, B.M., BEEBE S., GEPTS P., VANDERLEYDEN J. Beans (*Phaseolus* sp.) - model food legumes. **Plant and Soil**, v. 252, p. 55-128, 2003.
- BUCKINGHAM, KW.; ELA, SW.; MORRIS, JG.; AND GOLDMAN, CR. Nutritive value of the nitrogen-fixing aquatic fern *Azolla filiculoides*. **J Agric FoodChem** 26:1230–1234 (1978).
- BÜRKI, C. N.; LUDWIG, C.; CHICHERIO, C.; e DE RIBAUPIERRE, A. (2014). Individual differences in cognitive plasticity: An investigation of training curves in younger and older adults. **Psychological Research**, 78(6), 821–835.
- CASTRO, P. R. C.; GONÇALVES, M. B.; DEMÉTRIO, C. G. B. Efeito de reguladores vegetais na germinação de sementes. **Anais da Esalq**, Piracicaba, v. 2, p. 449- 468, 1985.
- CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical. Guaíba: **Livraria e Editora Agropecuária**, 2001. 132 p.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). Sistema estándar para La evaluación de germoplasma de frijol. **Cali, Colômbia**, 56 p. 1987.
- CHANTIRATIKUL, A., O. CHINRASRI, P. CHANTIRATIKUL, A. SANGDEE, U. MANEECHOTE AND C. BUNCHASAK., (2010). Effect of replacement of protein from soybean meal with protein from *wolffia* meal *Wolffia globosa* (L). Wimm. on performance and egg production in laying hens. **International Journal of Poultry Science** 9(3): 283–287.
- CHAVES, G. M. La antracnosis. In: SCHWARTZ, H.; GALVEZ, G. E. Problemas de producción del frijol. **Cali: CIAT**, 1980. p. 37-53.

CHENG J.; BERGMAN, B. A.; CLASSEN, J. J.; STOMP, A. M.; HOWARD, J. W., Nutrient Recovery from Swine Lagoon Water by *Spirodela punctata*. **Bioresource Technology**, v. 81, n.1, p. 81-85, 2002.

CIAT. **Standart system for the evaluation of bean germplasm**. Cali:Ciat, 1987. 54p.

CLUZET, S.; TORREGROSA, C.; JACQUET, C.; LAFITTE, C.; FOURNIER, J.; MERCIER, L.; SALAMAGNE, S.; BRIAND, X.; ESQUERRÉ-TUGAYÉ, M. T.; DUMAS, B. Gene expression profiling and protection of *Medicago truncatula* against a fungal infection in response to an elicitor from green algae *Ulva* spp. **Plant, Cell and Environment**, v. 27, n. 7, p. 917–928, 2004.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileiro – grãos: Safra 2018/2019. Brasília: **Companhia Nacional de Abastecimento**. 2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/.../safra/...safra.../20861_fb79e3ca2b3184543c580cd4a4aa4>. Acesso em: 08 dez. 2018.

CROSS, J.W. 2006. **The charms of duckweed**. Disponível em: Acesso em: Junho.2017.

CU, T.T.T., NGUYEN, T.X., TRIOLO, J.M., PEDERSEN, L., LE, V.D., LE, P.D., Sommer, S.G., 2015. 2241–2248.

DAS K, TIWARI RK, SHRIVASTAVA DK. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. **J Med Plants Res** 2010;4:104–11.

DE BORBA, M. C., DE FREITAS, M. B., & STADNIK, M. J. (2018). Ulvan enhances seedling emergence and controls *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Crop Protection**.

DE FREITAS, M. B. Caracterização química e atividade de ulvanas na indução de respostas oxidativas associadas ao controle de *Alternaria brassicicola* e *Colletotrichum higginsianum* em *Arabidopsis thaliana* / **Tese de doutorado**, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pósgraduação em Recursos Genéticos Vegetais / Mateus Brusco de Freitas. Orientador: Marciel João Stadnik – Florianópolis, SC, p. 109. 2014.

DE FREITAS, M. B.; MEDUGNO, C. C.; RAFAEL F. SCHONS, R. F.; STADNIK, M. J. Eficiência de formulações de ulvana em induzir resistência em *Phaseolus vulgaris* contra *Colletotrichum lindemuthianum*. **Tropical Plant Pathology**, vol. 36, 1, 045-049. 2011.

DEBONA, D.; FIGUEIRÓ, G.G.; CORTE, G.D.; NAVARINI, L.; DOMINGUES, L. da S.; BALARDIN, R.S. Efeito do tratamento de sementes com fungicidas e acibenzolar-S-methyl no controle da ferrugem asiática e crescimento de plântulas em cultivares de soja. **Summa Phytopathologica**, v.35, p.26-31, 2009.

DEBOUCK, D.G. Primary diversification of *Phaseolus* in the Americas: three centers? **Plant Genetic Resources Newsletter**, v.67, p.2-8, 1986.

DELILE, A.R. (1813) Description de l’Egypte, histoire naturelle 2. **Imprimerie Impériale**, Paris, pp. 1–241, t. 33.

- DI PIERO, M. R.; PASCHOLATI, S. F. Indução de Resistência em plantas de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pela aplicação de extratos de basidiocarpos de *Lentinula edodes* e de *Agaricus blazei*. **Summa Phytopathologica**, v. 30, p. 243- 250, 2004.
- DI PIERO, R. M.; GARDA, M. V. Quitosana reduz a severidade da antracnose e aumenta a atividade de glucanase em feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1121–1128, 2008.
- DI STASI, L.C. Plantas Medicinais: Arte e Ciência – Um Guia de Estudos Multidisciplinar. São Paulo: **Ed. Universidade Paulista**. 1996a. 215p.
- DODDS, WK.; GUDDER, DA.; MOLLENHAUER, D. (1995). The ecology of Nostoc. **J. Phycol.** 31: 2–18.
- DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A. L. **Produção de feijão**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 385 p.
- DU JARDIN P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, 2015; 196(1): 3-14.
- EDWARDS, P. Reuse of human wastes in aquaculture. A technical review, **UNDP – World Bank Water Research Program**, Washington D.C. THE WORLD BANK, .350p.1992.
- EFFIONG, B. N.; SANNI, A. Antifungal properties and phytochemical screening of crude extract of *Lemna pauciscostata* (helgelm) against fish feed spoilage fungi. **Life Science Journal**, v. 7, n. 3, p. 1–4, 2010.
- EMBRAPA. **Origem e história do feijão**. 2008. Disponível em: <<http://migre.me/7or1u>>. Acesso em: 02 nov. 2017.
- FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>>. Acesso em: 12 out 2018.
- FERNANDES, C.; ANJOS, J.; WALKER, LA.; SILVA, BM.; CORTES, L.; MOTA, M.; MUNRO, CA.; GOW, NA.; GONÇALVES, T. (2014). Modulation of *Alternaria infectoria* cell wall chitin and glucan synthesis by cell wall synthase inhibitors. **Antimicrob Agents Chemother** 58:2894–2904.
- FERNANDES, W. S. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de Santa Catarina. Respostas de defesa e resistência induzida por ulvana à antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). 85p. 2007.
- GE, X., ZHANG, N., PHILLIPS, G. C., XU, J. Growing *Lemna minor* in agricultural wastewater and converting the duckweed biomass to ethanol. **Bioresource Technology**. v. 124, p. 485-488. 2012.
- GONÇALVES, A.E.; STADNIK, M.J. Interferência de ulvana no desenvolvimento e melanização de apressórios de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Tropical Plant Pathology**, v.37, p.431-437, 2012.
- GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; KELLY, J. D. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean cultivar Widusa. **Euphytica**, v. 151, p. 411-419, 2006.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; THOMAZELLA, C.; VIDIGAL FILHO, P. S.; KVITSCHAL, M. V.; e ELIAS, H. T. (2008). Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates using differential cultivars of common bean in Santa Catarina State, Brasil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 51(5), 883-888.

GRAHAM, P. H.; RANALLI, P. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Field Crops Research**, v. 53, n. 1-3, p. 131–146, 1997.

GUAADAOU, A. et al. What is a Bioactive Compound? A Combined Definition for a Preliminary Consensus. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 174–179, 2014.

HAMMERSCHMIDT, R. Phytoalexins: what have we learned after 60 years? **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 37, p. 285-306, 1999.

HEMP, SILMAR ET AL. Feijão. Avaliação de cultivares para o Estado de Santa Catarina 2004/2005, Florianópolis. 2004. p. 69-77.

HILLMAN, W. S., CULLEY, D.D. The uses of duckweed: The rapid growth, nutritional value, and high biomass productivity of these floating plants suggest their use in water treatment, as feed crops, and in energy efficient farming. **American Scientist**. v. 66, n.4, p. 442-451. 1978.

IQBAL, S. Duckweed aquaculture. Potentials, possibilities and limitations, for combined wastewater treatment and animal feed production in developing countries. Switzerland. **SANDEC report**. n.6, 91p. 1999.

ISLAM, K. M. S. Feasibility of duckweed as poultry feed: A review. Bangladesh. **Indian Journal of Animal Sciences**. v.72, n. 6, p. 486- 491. 2002.

JACOBSON, ES., (2000). Pathogenic roles of fungal melanin. **Clinical Microbiology Review** 13:708-717.

KHAN, Z. H.; QADIR, I.; YAQOUB, S.; KHAN, R. A.; KHAN, M. A., 2009. Response of range grasses to salinity levels at germination and seedling stage. **J. Agric. Res.** (Lahore), 47 (2): 179-184.

KLAHOLD, C. A.; GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. M.; KLAHOLD, A.; CONTIERO, R. L.; BECKER, A. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 179-185, 2006.

KURAHASHI, Y., ARAKI, Y.; KIMBARA, T., PONTZEN, R.; YAMAGUCHI, I. (1998). Intermediated accumulation and inhibition sites of Carpropamid in the melanin biosynthesis pathway of *Pyricularia oryzae*. **Journal of Pesticide Science** 23:22-28.

LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I.; MENEZES, E. W.. **Cultura do Feijoeiro Comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996, p. 71-99.

LANDOLT, E. & KANDELER. The family of *lemnaceae* – a monographic study: Phytochemistry, physiology, application and bibliography. In Biosystematic Investigations in the Family of Duckweeds (*Lemnaceae*). Veröffentlichungen des geobotanischen Institutes der ETH. **Zürich. Stiftung Ruebel**, Vol 4, n.95: 638pp.1987.

- LANDOLT, E. 1986. Biosystematic investigations in the family of duckweeds (*Lemnaceae*) - **The family of *Lemnaceae*** - a monographic study v.1. Veröff. geobot. Inst., Zürich 71:1-566.
- LASAT, M. M. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. **Journal of Environmental Quality**, v. 31, p. 109-120, 2002.
- LENG, R. A., STAMBOLIE, J. H., & BELL, R. Duckweed-a potential high-protein feed resource for domestic animals and fish. **Livestock Research for Rural Development**. v. 7, n. 1, p. 36-51, 1995.
- LEON, B., & YOUNG, K. R. (1996). **Aquatic plants of Peru: diversity, distribution and conservation**. **Biodiversity and Conservation**, 5(10), 1169–1190.
- LES, D.H., D.J. CRAWFORD, R.T. KIMBALL, M.L. MOODY AND E. LANDOLT. (2003). Biogeography of discontinuously distributed hydrophytes: a molecular appraisal of intercontinental disjunctions. **International Journal of Plant Sciences** 164(6): 917–932.
- LING, YUN.; HE BANZUO, BAO.; YANYAN, et al. (Department of Pharmacy, Naval General Hospital, Beijing 100037).; Studies on the Chemical Constituents of Common Ducksmeat (*Spirodela polyrrhiza*); **Chinese traditional and herbal drugs**; 1999-02.
- LOFFAGUEN, J. C.; TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. Identificação da raça 73 de *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal da antracnose-do-feijoeiro, em dois municípios do Alto Vale do Itajaí, SC. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 18, n. 2, p. 87-89, 2005.
- MAHUKU, G. S.; JARA, C. E.; CAJIAO, C.; BEEBE, S. Sources of resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in the secondary gene pool of *Phaseolus vulgaris* and in crosses of primary and secondary gene pools. **Plant Disease**, v. 86, p. 1383-1387, 2002.
- MILANESI, P.M.; BLUME, E.; MUNIZ, M.F.B.; CRISTIANE, S.B.; JUNGES, E.; MANZONI, C.G.; WEBER, M.N.D. Ação fungitóxica de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v.16, p.1-13, 2009.
- MKANDAWIRE, M. AND DUDEL, E. G. Bioremediation, Biodiversity and Bioavailability, 2007, 1, 56–71.
- MOHEDANO, R.A., COSTA, R.H.R., TAVARES, F.A., FILHO, P.B., 2012. High nutrient removal recovery from swine lagoon water by *Spirodela punctata*. **Bioresour. Technol.** 81, rate from swine wastes and protein biomass production by full-scale duckweed 81–85. ponds. **Bioresour. Technol.** 112, 98–104.
- NARDI S, PIZZEGHELLOD, SCHIAVONM, ERTANI A. Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. **Scientia Agricola**, v. 73, p. 18-23, 2016.
- NAYAK, N.; PADHY, R. N.; SINGH, P. K. Evaluation of Antibacterial and Antioxidant Efficacy of the Fern *Azolla caroliniana* Symbiotic with the Cyanobacterium *Anabaena azollae*. **Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences**, v. 85, n. 2, p. 555–569, 2015.

O'CONNELL, R.; PERFECT, S.; HUGHES, B.; CARZANIGA, R.; BAILEY, J.; GREEN, J. Dissecting the cell biology of *Colletotrichum* infection processes. In: PRUSKY, D.;

OOSTENDORP, M. et al. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 19-28, 2001.

PABBY A, PRASANNA R, SINGH PK. Biological significance of *Azolla* and its utilization in agriculture. Proceedings of Indian **National Science Academy B**. 2004;70:301–335.

PASTOR-CORRALES, M. A. Estandarizacion de Variedades Diferenciales y de Designacion de Razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Phytopathology**, v. 81, p. 694, 1991.

PAULA Jr., T. J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C., PAULA Jr., T. J. de BORÉM, A. (Ed.). Feijão: Aspectos gerais e cultura no Estado de Minas: **Viçosa: UFV**, 1998. p.375-433.

PAULERT, R. et al. Effects of sulfated polysaccharide and alcoholic extracts from green seaweed *Ulva fasciata* on anthracnose severity and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 116, n. 6, p. 263–270, 2009.

PAULERT, R.; STADNIK, M. J.; MOERSCHBACHER, B. M. Priming and elicitor activities of an oxidative burst in wheat, rice and Medicago truncatula cells by a polysaccharides from green seaweed. In: Arbeitskreis Wirt-Parasit-Beziehungen, 2008, Bonn (Alemanha). Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes. Stuttgart : **Ulmer Verlag**, v. 60. p. 166-167, 2008.

PAYAN, J. P. M.; STALL, W. Effects of aminolevuluric acid and acetyl thioproline on weed free and weed infested St. Augustine Turfgrass. **Florida State Horticultural Society**, v. 117, p. 282-285, 2004.

PEREIRA, JO.; AZEVEDO, JL.; PETRINI, O. 1993. Endophytic fungi of Stylosanthes: a first report. **Mycologia**, v. 85, n. 3, p. 362-364.

PERFECT, S. E.; BLEDDYN HUGHES, H.; O'CONNELL, R. J.; GREEN, J. R. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. **Fungal Genetics and Biology**, v. 27, p. 186-198, 1999.

PIETERSE, C. M. J. et al. Induced systemic resistance by beneficial microbes. Annual Review of Phytopathology, v. 52, p. 347-375, 2014.

POTT, V. J.; POTT, A. **Potencial de uso das plantas aquáticas na despoluição da água**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2002. 25 p.

PRASAD, M. N. V.; MALEC, P.; WALOSZEK, A.; BOJKO, M.; STRZALKA, K. Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation. **Plant Science**, v. 161, p. 881-889, 2001.

RAN, N., AGAMI, M., ORON, G., 2004. A pilot study of constructed wetlands using duckweed digestion of biomass. Renewable Energy 22, 1–8. (*Lemna gibba* L.) for treatment of domestic primary effluent in Israel. **Water Res.** 38.

RATHORE, S. S. et al. Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions. **South African Journal of Botany**, v. 75, p. 351-355, 2009.

RAVA, C. A.; MOLINA, J.; KAUFFMANN, M.; BRIONES, I. Determinación de razas fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Nicaragua. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 388-391, 1993.

RAVA, C. A.; SARTORATO, A. Antracnose. In: SARTORATO, A. RAVA, C.A. (Ed.). Principais Doenças do Feijoeiro Comum e seu Controle. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1994. p. 17-40.

RHOADES, F.M. **Sporeprint colors using Pantone™ colors**. 2014. Disponível em: <https://www.northwestmushroomers.org/wpcontent/uploads/2014/09/Sporeprint_colors_small.pdf>. Acesso em: 15 Mar 2019.

RODRIGUES, KF.; DIAS-FILHO, MB. (1996). Fungal endophytes in the tropical grasses *Brachiaria brizantha* cv. Marandu and *B. humidicola*. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.31 (12), p. 905-909.

SAID, M.Z.; CULLEY, D.D.; STANDIFER, L.C.; EPPS, E.A.; MYERS, R.W.; BONEY, S.A. Effect of harvest rate, waste loading, and stocking density on the yield of duckweeds. **Proc. World Mariculture Society**. v.10, n. 1-4, p.769-780. 1979.

SANSIGOLO, A.L. Identificação de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* na cultura do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) no estado do Paraná. 2007. 62 f. **Dissertação (Mestrado)** - Pós-graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2007.

SARTORATO, A. Avaliação da cultivar BRS Valente a vários patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum*. In: Congresso brasileiro de melhoramento de plantas, 2003, Porto Seguro, BA. Anais do Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. Londrina: **Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas**, 2004. v. 1. p. T486. 51.

SARTORATO, A.. Cultura do Feijoeiro: Fatores que Afetam a Produtividade. Piracicaba: **Potafos**, 1988, p. 457-477.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; FARIA, J. C. **Doenças de métodos de controle. 2009**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/index.htm>>. Acesso em: 05 jun 2017.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; RIOS, G. P. A cultura do Feijoeiro Comum no Brasil. Piracicaba: **Potafos**, 1996, p. 71-99.

SCHWARTZ, H. F. Anthracnose. In: HALL, R. **Compendium of Bean Diseases**. St. Paul: APS, 1994, p. 16-17.

SHAIJI, F; NACZK, M. **Food phenolics**: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: Technomic Publishing, 1995. p. 281-319.

- SHI, D. J. E HALL, D. O., (1988). The *Azolla* - *Anabaena* Association: Historical Perspective, Symbiosis and Energy Metabolism. **The Botanical Review**, New York, v. 54, No. 4, 353-386.
- SILVA, T. T. A.; VON PINHO, E. V. R; CARDOSO, D. L.; FERREIRA, C. A.; ALVIM, P. O.; COSTA, A. A. F. Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. **Ciência Agrotecnologia, Lavras**, v. 32, n. 3, p. 840-846, 2008.
- SINGH, PK. (1989). Use of *Azolla* in Asian agriculture. *Appl Agri Res* 4:149–161.
- SINGH, S. P. Broadening the genetic base of common bean cultivars: A review. **Crop Science**, v. 41, p. 1659-1675, 2001.
- SINGH, S.P. Common bean improvement in the tropics. **Plant Breeding Review**, New York, v.10, p.199-269, 1992.
- SINGH, U. S.; MUKHOPADHYAY, A. N. (Eds.) Plant diseases of international importance. **Prentice Hall: Inglewood Cliffs**, v. 2, 1992, p. 18-39.
- SKILLICORN, P.; SPIRA, W.; JOURNEY, W. Duckweed aquaculture: a new aquatic farming system for developing countries. Washington, D.C., **The World Bank**. 1993 76 pp.
- SOOD, A.; AHLUWALIA, AS. Cyanobacterial–plant symbioses with emphasis on *Azolla* - *Anabaena* symbiotic system. **Indian Fern Journal**. 2009;26:166–178.
- STADNIK, M. J.; BUCHENAUER, H. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase suppresses the resistance induced by benzothiadiazole in wheat to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 57, p. 25-34, 2000.
- STADNIK, M. J.; EL-GUEDDARI, N. E.; MOERSCHBACHER, B. M. Effect of *Ulva fasciata* extract and chitosan on the uredospore germination of *Puccinia graminis* and peroxidase activity in wheat. **Summa Phytopathologica**, v. 31(suppl.), n. 24, 2005.
- STADNIK, M. J.; MARASCHIN, M. Indução de resistência de plantas a fitopatógenos. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004, p. 221-244.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.
- TALAMINI, V.; SOUZA, E. A. de; POZZA, E. A.; CARRIJO, F. R. F.; ISHIKAWA, F. H.; SILVA, K. J. D.; OLIVEIRA, F. A. de. Identificação de raças patogênicas de *Colletotrichum lindemuthianum* a partir de isolados provenientes de regiões produtoras de feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 3, p. 371-375, 2004.
- VAN DEN BOSCH, F. et al. Governing principles can guide fungicide-resistance management tactics. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 52, n. 1, p. 175-195, 2014.
- VASCONCELOS, A.C.F. Uso de bioestimulantes nas culturas de milho e soja. 2006. 111f. **Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola)**-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.

- VELICHKOVA, K.; SIRAKOV, I.; RUSENOVA, N.; BEEV G.; DENEV S.; VALCHEVA, N. *In vitro* antimicrobial activity on *Lemna minuta*, *Chlorella vulgaris* and *Spirulina* sp. Extracts. Volume 27 N°. 8/2018 pages 5736-5741, **Fresenius Environmental Bulletin**, August 2018.
- VERWER, PEB., VAN, DUIJN ML, TAVAKOL M, BAKKER-WOUDENBERG IAJM, VAN DE SANDE WWJ (2012) Reshuffling of *Aspergillus fumigatus* cell wall components chitin and β -glucan under the influence of caspofungin or nikkomycin Z alone or in combination.
- VILHORDO, B. W.; MIKUSINSKI, O. M. F.; BURIN, M. E.; GANDOLFI, V. H. Morfologia. In: ARAUJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F. ZIMMERMANN, M. J. O. **Cultura do Feijoeiro Comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996, p. 71-99.
- WALTERS, D.; HEIL, M. Costs and trade-offs associated with induced resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 71, p. 3-17, jul/set. 2007.
- WHARTON, P. S.; JULIAN, A. M.; O'CONNELL, R. J. Ultrastructure of the infection of *Sorghum bicolor* by *Colletotrichum sublineolum*. **Phytopathology**, v. 91, n. 2, p. 149-158, 2001.
- XIE, T. et al. Antimicrobial activities and flavonoid contents of the extracts from four strains of duckweed. **Chinese Journal of Applied and Environmental Biology**, v. 20, n. 2, p. 238–244, 2014.
- XU, J.; SHEN, G. Growing duckweed in swine wastewater for nutrient recovery and biomass production. **Bioresource Technology**, Raleigh, v.102, n.2, p.848–853, 2011.
- YAN, X. Assessment of calcareous alga *Corallina pilulifera* as elemental provider. **Biomass and Bioenergy**, v. 16, p. 357-360, 1999.
- ZEMKE-WHITE, W. L.; OHNO, M. World seaweed utilisation: and end-of-century summary. **Journal of Applied Phycology**, v. 11, p. 369-376, 1999.
- ZHANG, X.; ERVINE, E. H. Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with Creeping bent grass leaf cytokinins and drought resistance. **Crops**, v. 44, p. 1737-1745, 2004. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2004.1737>.

8. ANEXOS

Anexo 1 - Análise de variância (ANOVA) para os coeficientes angulares obtidos nas regressões do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA nas concentrações de 25 e 50 mg.mL⁻¹ dos extratos etanólicos de plantas aquáticas.

Concentração	FV	SQ	GL	QM	F	P
25 mg.mL ⁻¹	Intercept	127.9674	1	127.9674	5914.149	0.000000
	"Var1"	0.5293	3	0.1764	8.154	0.001607
	Error	0.3462	16	0.0216		
	FV	SQ	GL	QM	F	P
50 mg.mL ⁻¹	Intercept	55.07881	1	55.07881	992.6792	0.000000
	"Var1"	0.11494	3	0.03831	0.6905	0.571029
	Error	0.88776	16	0.05548		

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de Fc>F esperado.

Anexo 2 - Análise de variância (ANOVA) para o Diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extratos etanólicos de plantas aquáticas e *Phaseolus vulgaris* L. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

Concentração	FV	SQ	GL	QM	F	P
<i>Azolla</i>	Intercepto	85.80994	1	85.80994	5836.458	0.00
	"Var1"	47.51427	4	11.87857	807.934	0.00
	Erro	0.36756	25	0.01470		
	FV	SQ	GL	QM	F	P
<i>Spirodela</i>	Intercepto	99.68754	1	99.68754	1969.985	0.00
	"Var1"	42.00655	4	10.50164	207.529	0.00
	Erro	1.26508	25	0.05060		
	FV	SQ	GL	QM	F	P
<i>Lemna</i>	Intercepto	116.9914	1	116.9914	4781.709	0.00
	"Var1"	32.9293	4	8.2323	336.475	0.00
	Erro	0.6117	25	0.0245		
	FV	SQ	GL	QM	F	P
<i>Landoltia</i>	Intercepto	101.3786	1	101.3786	3339.039	0.00
	"Var1"	47.3283	4	11.8321	389.705	0.00
	Erro	0.7590	25	0.0304		
	FV	SQ	GL	QM	F	P
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Intercepto	382.3589	1	382.3589	32708.20	0.00
	"Var1"	4.7898	4	1.1974	102.43	0.00
	Erro	0.2338	20	0.0117		

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de Fc>F esperado.

Anexo 3 - Análise de variância ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Azolla* sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) e testemunha (0 mg. mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

0 mg.mL⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	116046.3	2	58023.15	13848.93	0.00
Erro	326.8	78	4.19		
Total	116373.1	80			
<i>Azolla</i> 25 mg.mL⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	28277.11	2	14138.56	8627.505	0.00
Erro	62.27	38	1.64		
Total	28339.39	40			
<i>Azolla</i> 50 mg.mL⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	16784.53	2	8392.266	8427.298	0.00
Erro	37.84	38	0.996		
Total	16822.38	40			
<i>Azolla</i> 75 mg.mL⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	7882.253	2	3941.127	2070.371	0.00
Erro	72.336	38	1.904		
Total	7954.589	40			
<i>Azolla</i> 100 mg.mL⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	5281.416	2	2640.708	4508.995	0.00
Erro	22.255	38	0.586		
Total	5303.671	40			

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado.

Anexo 4 - Análise de variância ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Spirodela* sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

<i>Spirodela</i> 25 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	29435.69	2	14717.84	3946.875	0.000000
Erro	141.70	38	3.73		
Total	29577.39	40			
<i>Spirodela</i> 50 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	18543.94	2	9271.972	1482.261	0.00
Erro	237.70	38	6.255		
Total	18781.65	40			
<i>Spirodela</i> 75 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	10229.64	2	5114.822	7689.288	0.00
Erro	25.28	38	0.665		
Total	10254.92	40			
<i>Spirodela</i> 100 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	6037.161	2	3018.581	2239.541	0.00
Erro	51.219	38	1.348		
Total	6088.380	40			

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado.

Anexo 5 - Análise de variância ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Lemna* sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

<i>Lemna</i> 25 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	31005.64	2	15502.82	8923.896	0.000000
Erro	66.01	38	1.74		
Total	31071.66	40			
<i>Lemna</i> 50 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	16775.33	2	8387.667	8476.934	0.00
Erro	37.60	38	0.989		
Total	16812.93	40			
<i>Lemna</i> 75 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	12481.46	2	6240.728	2491.444	0.00
Erro	95.18	38	2.505		
Total	12576.64	40			
<i>Lemna</i> 100 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	9989.17	2	4994.587	1425.637	0.00
Erro	133.13	38	3.503		
Total	10122.30	40			

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado.

Anexo 6 - Análise de variância ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Landoltia* sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

<i>Landoltia</i> 25 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	35464.96	2	17732.48	9110.780	0.000000
Erro	73.96	38	1.95		
Total	35538.92	40			
<i>Landoltia</i> 50 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	19021.42	2	9510.708	1964.539	0.00
Erro	183.97	38	4.841		
Total	19205.38	40			
<i>Landoltia</i> 75 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	8742.185	2	4371.092	1657.595	0.00
Erro	100.206	38	2.637		
Total	8842.391	40			
<i>Landoltia</i> 100 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	4846.945	2	2423.472	2803.371	0.00
Erro	32.850	38	0.864		
Total	4879.795	40			

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado.

Anexo 7 - Análise de variância ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Phaseolus vulgaris* L. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

<i>Phaseolus vulgaris</i> L. 25 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	48469.95	2	24234.98	1080.259	0.00
Erro	852.51	38	22.43		
Total	49322.46	40			
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. 50 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	40951.79	2	20475.90	2611.157	0.00
Erro	297.98	38	7.84		
Total	41249.78	40			
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. 75 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	40566.59	2	20283.29	871.6409	0.00
Erro	884.27	38	23.27		
Total	41450.86	40			
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. 100 mg.mL ⁻¹					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	29357.83	2	14678.92	1379.157	0.00
Erro	404.45	38	10.64		
Total	29762.28	40			

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado.

Anexo 8 - Análise de variância ($P \leq 0,05$) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹), na porcentagem de germinação de conídios de *C. lindemuthianum* após 48 horas de incubação.

<i>Lemna</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	431074.3	2	215537.2	26170.56	0.00
Erro	477.7	58	8.2		
Total	431552.0	60			
<i>Spirodela</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	426494.0	3	142164.7	14044.52	0.00
Erro	577.0	57	10.1		
Total	427071.0	60			
<i>Azolla</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	403851.9	3	134617.3	5906.552	0.00
Erro	1299.1	57	22.8		
Total	405151.0	60			
<i>Landoltia</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	452672.2	2	226336.1	13208.96	0.00
Erro	993.8	58	17.1		
Total	453666.0	60			

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado.

Anexo 9 - Análise de variância ($P \leq 0,05$) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹), na porcentagem de formação de apressório de *C. lindemuthianum* após 48 horas de incubação.

<i>Lemna</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	149739.2	3	49913.07	473.0875	0.00
Erro	6013.8	57	105.50		
Total	155753.0	60			
<i>Spirodela</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	95695.43	3	31898.48	559.8695	0.000000
Erro	3247.57	57	56.97		
Total	98943.00	60			
<i>Azolla</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	133568.2	2	66784.08	884.9934	0.00
Erro	4376.8	58	75.46		
Total	137945.0	60			
<i>Landoltia</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	133007.6	2	66503.79	756.8500	0.00
Erro	5096.4	58	87.87		
Total	138104.0	60			

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado.

Anexo 10 - Análise de variância ($P \leq 0,05$) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹), na porcentagem de apressório melanizado de *C. lindemuthianum* após 48 horas de incubação.

<i>Lemna</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	30108.82	2	15054.41	450.0385	0.00
Erro	1940.18	58	33.45		
Total	32049.00	60			
<i>Spirodela</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	19453.90	2	9726.950	407.6026	0.000000
Erro	1384.10	58	23.864		
Total	20838.00	60			
<i>Azolla</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	29664.90	2	14832.45	440.2447	0.00
Erro	1954.10	58	33.69		
Total	31619.00	60			
<i>Landoltia</i>					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Regressão	30919.72	2	15459.86	437.9815	0.00
Erro	2047.28	58	35.30		
Total	32967.00	60			

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado.

Anexo 11 - Análise de variância (ANOVA) para porcentagem de germinação de sementes e plântulas normais de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. IP Uirapuru, submetidas a diferentes tratamentos com extratos etanólicos de plantas aquáticas (50 mg.mL⁻¹).

Plântulas normais					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Intercepto	331968,4	1	331968,4	18442,69	0,000000
"Var1"	153,6	4	38,4	2,13	0,097329
Erro	630,0	35	18,0		
Germinação de sementes					
FV	SQ	GL	QM	F	P
Intercepto	241180,9	1	241180,9	8370,185	0,000000
"Var1"	212,6	4	53,2	1,845	0,142331
Erro	1008,5	35	28,8		

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de $F_c > F$ esperado.

Anexo 12 - Análise de variância (ANOVA) para o comprimento, peso fresco, peso seco de Plântulas de feijão *Phaseolus vulgaris* cv. IPR Uirapuru 9 dias após serem embebidas em tratamentos com extratos etanólicos de *Lemna* sp., *Landoltia* sp., *Spirodela* sp., *Azolla* sp. (50 mg.mL⁻¹).

Peso seco						
	FV	SQ	GL	QM	F	P
Raiz	Intercepto	0.028594	1	0.028594	1931.812	0.000000
	"Var1"	0.000195	4	0.000049	3.286	0.019078
	Erro	0.000666	45	0.000015		
	FV	SQ	GL	QM	F	P
Parte aérea	Intercepto	0.356700	1	0.356700	1594.555	0.000000
	"Var1"	0.006732	4	0.001683	7.523	0.000099
	Erro	0.010066	45	0.000224		
Peso fresco						
	FV	SQ	GL	QM	F	P
Raiz	Intercepto	43.18922	1	43.18922	2136.655	0.000000
	"Var1"	0.76995	4	0.19249	9.523	0.000012
	Erro	0.90961	45	0.02021		
	FV	SQ	GL	QM	F	P
Parte aérea	Intercepto	3.405870	1	3.405870	794.0117	0.000000
	"Var1"	0.126103	4	0.031526	7.3496	0.000034
	Erro	0.407497	95	0.004289		
Comprimento						
	FV	SQ	GL	QM	F	P
Raiz	Intercepto	18769.00	1	18769.00	2227.243	0.000000
	"Var1"	62.19	4	15.55	1.845	0.126596
	Erro	800.57	95	8.43		
	FV	SQ	GL	QM	F	P
Parte aérea	Intercepto	23697.52	1	23697.52	5620.911	0.000000
	"Var1"	293.42	4	73.36	17.399	0.000000
	Erro	400.52	95	4.22		

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de Fc>F esperado.

Anexo 13 - Análise de variância (ANOVA) para o efeito local (a) e sistêmico (b) dos extratos etanólicos de *Lemna* sp., *Landoltia* sp., *Spirodela* sp., *Azolla* sp. (50 mg.mL⁻¹) e Bion[®] (0,05 mg.mL⁻¹) na severidade da antracnose (*C. lindemuthianum*) avaliada aos 7 e 12 dias após a inoculação em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Uirapuru).

Efeito local						
	FV	SQ	GL	QM	F	P
7 DAI	Intercept	774.9382	1	774.9382	3737.597	0.00
	"Var1"	52.4449	5	10.4890	50.589	0.00
	Error	13.2695	64	0.2073		
	FV	SQ	GL	QM	F	P
12 DAI	Intercept	1746.709	1	1746.709	10437.36	0.000000
	"Var1"	21.913	5	4.383	26.19	0.000000
	Error	10.711	64	0.167		
Efeito sistêmico						
	FV	SQ	GL	QM	F	P
7 DAI	Intercept	606.5640	1	606.5640	3062.609	0.00
	"Var1"	58.7104	5	11.7421	59.287	0.00
	Error	12.6755	64	0.1981		
	FV	SQ	GL	QM	F	P
12 DAI	Intercept	1785.126	1	1785.126	5756.395	0.000000
	"Var1"	25.167	5	5.033	16.231	0.000000
	Error	19.847	64	0.310		

FV: Fonte de variação; SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de Liberdade; QM: Quadrado Médio; Fc: Valor do F-teste calculado; P: Probabilidade de Fc>F esperado.

Anexo 14 - Resultado do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para os coeficientes angulares obtidos nas regressões do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA nas concentrações de 25 e 50 mg.mL⁻¹ dos extratos etanólicos de plantas aquáticas.

Concentração	Tratamento	Média	Teste Tukey
25 mg.mL ⁻¹	<i>Spirodela</i>	2,3	a
	<i>Azolla</i>	2,4	a
	<i>Landoltia</i>	2,5	ab
	<i>Lemna</i>	2,7	b
Concentração	Tratamento	Média	Teste Tukey
50 mg.mL ⁻¹	<i>Spirodela</i>	1,5	a
	<i>Azolla</i>	1,6	a
	<i>Landoltia</i>	1,6	a
	<i>Lemna</i>	1,7	a

Anexo 15 - Resultado do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para o Diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extratos etanólicos de plantas aquáticas e de *Phaseolus vulgaris* L. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

Tratamento	Concentração mg.mL ⁻¹	Média	Teste Tukey
<i>Azolla</i>	100	0,47	e
	75	0,79	d
	50	1,54	c
	25	2,32	b
	0	3,69	a
Tratamento	Concentração mg.mL ⁻¹	Média	Teste Tukey
<i>Spirodela</i>	100	0,55	e
	75	1,13	d
	50	1,66	c
	25	2,46	b
	0	3,65	a
Tratamento	Concentração mg.mL ⁻¹	Média	Teste Tukey
<i>Lemna</i>	100	1,08	d
	75	1,30	d
	50	1,66	c
	25	2,56	b
	0	3,65	a
Tratamento	Concentração mg.mL ⁻¹	Média	Teste Tukey
<i>Landoltia</i>	100	1,08	d
	75	1,30	d
	50	1,66	c
	25	2,56	b
	0	3,65	a
Tratamento	Concentração mg.mL ⁻¹	Média	Teste Tukey
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	100	3,21	d
	75	3,74	c
	50	3,92	c
	25	4,14	b
	0	4,53	a

Anexo 16 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Phaseolus vulgaris* L. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) e testemunha (0 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

0 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	4,20	0,12	34,49	0,00	3,95	4,45	0,98
B	3,49	1,02	3,42	0,00	1,43	5,56	
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. 25 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	3,81	0,16	23,32	0,00	3,48	4,14	0,96
B	3,42	1,36	2,50	0,01	0,66	6,19	
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. 50 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	3,81	0,16	23,32	0,00	3,48	4,14	0,98
B	3,42	1,36	2,50	0,01	0,66	6,19	
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. 75 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	3,59	0,16	21,62	0,000000	3,26	3,93	0,96
B	2,04	1,39	1,46	0,000150	-0,77	4,86	
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. 100 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	2,88	0,11	25,61	0,00	2,65	3,11	0,97
B	3,46	0,94	3,68	0,00	1,56	5,37	

Abreviaturas: Valor de t calculado (T); Intervalo de Confiança (IC); probabilidade de t calculado > t esperado (P), Coeficiente de determinação (R²).

Anexo 17 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Spirodela* sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

***Spirodela* 25 mg.mL⁻¹**

Modelo: $y=(a*x)+b$

Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	2.44	0.06	36.76	0.00	2.31	2.58	0,98
B	7.54	0.55	13.54	0.00	6.42	8.67	

***Spirodela* 50 mg.mL⁻¹**

Modelo: $y=(a*x)+b$

Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	1.67	0.08	19.38	0.00	1.49	1.84	0,95
B	8.40	0.72	11.64	0.00	6.94	9.86	

***Spirodela* 75 mg.mL⁻¹**

Modelo: $y=(a*x)+b$

Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	1.02	0.02	36.52	0.00	0.97	1.08	0,98
B	8.08	0.23	34.35	0.00	7.61	8.56	

***Spirodela* 100 mg.mL⁻¹**

Modelo: $y=(a*x)+b$

Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	0.55	0.04	13.96	0.00	0.47	0.64	0,91
B	8.10	0.33	24.16	0.00	7.42	8.77	

Abreviaturas: Valor de t calculado (T); Intervalo de Confiança (IC); probabilidade de t calculado > t esperado (P), Coeficiente de determinação (R²).

Anexo 18 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Lemna* sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

<i>Lemna</i> 25 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
a	2.56	0.04	56.42	0.00	2.47	2.65	0,99
b	7.27	0.38	19.11	0.00	6.50	8.04	
<i>Lemna</i> 50 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
a	1.66	0.03	48.53	0.00	1.59	1.73	0,99
b	7.34	0.28	25.57	0.00	6.76	7.92	
<i>Lemna</i> 75 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
a	1.30	0.05	23.95	0.00	1.19	1.41	0,96
b	7.45	0.45	16.32	0.00	6.53	8.38	
<i>Lemna</i> 100 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	1.088	0.06	16.85	0.00	0.95	1.21	0,93
B	7.37	0.54	13.65	0.00	6.28	8.46	

Abreviaturas: Valor de t calculado (T); Intervalo de Confiança (IC); probabilidade de t calculado > t esperado (P), Coeficiente de determinação (R²).

Anexo 19 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Landoltia* sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

<i>Landoltia</i> 25 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	2.77	0.04	57.68	0.00	2.67	2.87	0,99
B	7.48	0.40	18.58	0.00	6.66	8.29	
<i>Landoltia</i> 50 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	1.78	0.07	23.47	0.00	1.62	1.93	0,96
B	7.74	0.63	12.19	0.00	6.45	9.02	
<i>Landoltia</i> 75 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	0.96	0.05	17.27	0.00	0.85	1.08	0,94
B	7.32	0.46	15.63	0.00	6.37	8.27	
<i>Landoltia</i> 100 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	0.41	0.03	12.88	0.00	0.34	0.47	0,90
B	7.95	0.26	29.62	0.00	7.40	8.49	

Abreviaturas: Valor de t calculado (T); Intervalo de Confiança (IC); probabilidade de t calculado > t esperado (P), Coeficiente de determinação (R²).

Anexo 20 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do diâmetro (mm) de colônias de *C. lindemuthianum* cultivadas em meio BDA com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Azolla* sp. (25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹) e testemunha (0 mg.mL⁻¹) durante 14 dias de incubação.

0 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	3.65	0.049	73.18	0.00	3.58	3.75	0,99
B	8.62	0.417	20.63	0.00	7.78	9.45	
<i>Azolla</i> 25 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	2.32	0.04	52.74	0.00	2.24	2.41	0,99
B	8.04	0.36	21.76	0.00	7.29	8.79	
<i>Azolla</i> 50 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	1.55	0.034	45.12	0.00	1.483	1.623	0,99
B	8.33	0.288	28.921	0.00	7.749	8.915	
<i>Azolla</i> 75 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	0.795	0.047	16.718	0.00	0.699	0.892	0,93
B	7.984	0.398	20.047	0.00	7.178	8.790	
<i>Azolla</i> 100 mg.mL⁻¹							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	0.479	0.026	18.153	0.00	0.425	0.532	0,94
B	7.923	0.220	35.865	0.00	7.476	8.370	

Abreviaturas: Valor de t calculado (T); Intervalo de Confiança (IC); probabilidade de t calculado > t esperado (P), Coeficiente de determinação (R²).

Anexo 21 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹), na porcentagem de germinação de conídios de *C. lindemuthianum* após 48 horas de incubação.

<i>Lemma</i>							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	-0.12	0.00	-12.59	0.00	-0.14	-0.10	0,85
B	89.85	0.55	161.67	0.00	88.73	90.96	
<i>Spirodela</i>							
Modelo: $y=(a*(x^2))+b*x+c$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	0.0012	0.00	3.01	0.00	0.00	0.00	0,78
B	-0.213	0.03	-5.50	0.00	-0.29	-0.13	
C	89.37	0.68	129.61	0.00	87.99	90.75	
<i>Azolla</i>							
Modelo: $y=(a*(x^2))+b*x+c$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	-0.002	0.0005	-3.96	0.00	-0.003	-0.001	0,88
B	-0.01	0.058	-0.18	0.00	-0.12	0.10	
C	89.35	1.034	86.36	0.00	87.28	91.43	
<i>Landoltia</i>							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	-0.08	0.01	-6.004	0.00	-0.11	-0.057	0,91
B	90.38	0.80	112.75	0.00	88.78	91.992	

Abreviaturas: Valor de t calculado (T); Intervalo de Confiança (IC); probabilidade de t calculado > t esperado (P), Coeficiente de determinação (R²).

Anexo 22 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹), na porcentagem de formação de apressório de *C. lindemuthianum* após 48 horas de incubação.

Lemna

Modelo: $V2=(a*(v1^2))+(b*v1)+c$

Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	-0.006	0.001	-4.75	0.00	-0.008	-0.003	0,93
B	-0.127	0.125	-1.02	0.00	-0.37	0.12	
C	66.51	2.226	29.87	0.00	62.05	70.96	

Spirodela

Modelo: $V2=(a*(v1^2))+(b*v1)+c$

Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	0.007	0.0009	8.26	0.00	0.005	0.009	0,96
B	-1.41	0.09	-15.41	0.00	-1.60	-1.23	
C	64.28	1.63	39.29	0.00	61.01	67.56	

Azolla

Modelo: $y=(a*x)+b$

Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	-0.65	0.03	-21.75	0.00	-0.71	-0.59	0,94
B	67.66	1.68	40.22	0.00	64.29	71.02	

Landoltia

Modelo: $y=(a*x)+b$

Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	-0.50	0.032	-15.59	0.00	-0.57	-0.44	0,89
B	64.23	1.81	35.38	0.00	60.60	67.87	

Abreviaturas: Valor de t calculado (T); Intervalo de Confiança (IC); probabilidade de t calculado > t esperado (P), Coeficiente de determinação (R²).

Anexo 23 - Estimativa dos parâmetros ($P \leq 0,05$) para a regressão do efeito do extrato etanólico de plantas aquáticas em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75, 100 mg.mL⁻¹), na porcentagem de apressório melanizado de *C. lindemuthianum* após 48 horas de incubação.

<i>Lemna</i>							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	-0.34	0.02	-17.07	0.00	-0.38	-0.30	0,91
B	32.67	1.12	29.17	0.00	30.43	34.91	
<i>Spirodela</i>							
Modelo: $v2=b-a*\text{Log10}(v1)$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	9.64	1.074692	28.55180	0.00	28.53315	32.83561	0,94
B	-5.49	0.748877	23.11874	0.00	15.81404	18.81212	
<i>Azolla</i>							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	-0.33	0.02	-16.56	0.00	-0.37	-0.29	0,90
B	32.32	1.12	28.75	0.00	30.07	34.57	
<i>Landoltia</i>							
Modelo: $y=(a*x)+b$							
Parâmetro	Valor	Erro-padrão	T	P	IC (-95%)	IC (+95%)	R ²
A	-0.31	0.02	-15.26	0.00	-0.35	-0.27	0,89
B	32.53	1.15	28.28	0.00	30.23	34.84	

Abreviaturas: Valor de t calculado (T); Intervalo de Confiança (IC); probabilidade de t calculado > t esperado (P), Coeficiente de determinação (R²).

Anexo 24 - Resultado do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para porcentagem de germinação de sementes e plântulas normais de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. IP Uirapuru, submetidas a diferentes tratamentos com extratos etanólicos de plantas aquáticas (50 mg.mL⁻¹).

	Tratamento	Média	Teste Tukey
Plântulas normais	<i>Spirodela</i>	88,00	a
	Testemunha	90,50	a
	<i>Lemna</i>	91,00	a
	<i>Azolla</i>	92,00	a
	<i>Landoltia</i>	94,00	a
	Tratamento	Média	Teste Tukey
Germinação de sementes	Testemunha	75,50	a
	<i>Spirodela</i>	75,75	a
	<i>Azolla</i>	76,25	a
	<i>Landoltia</i>	79,50	a
	<i>Lemna</i>	81,25	a

Anexo 25 - Resultado do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para comprimento, peso fresco, peso seco de Plântulas de feijão *Phaseolus vulgaris* cv. IPR Uirapuru 9 dias após serem embebidas em tratamentos com extratos etanólicos de *Lemna* sp., *Landoltia* sp., *Spirodela* sp., *Azolla* sp. (50 mg.mL⁻¹).

Peso seco			
	Tratamento	Média	Teste Tukey
Raiz	<i>Azolla</i>	0.020	a
	<i>Lemna</i>	0.023	ab
	Testemunha	0.023	ab
	<i>Spirodela</i>	0.025	ab
	<i>Landoltia</i>	0.026	b
	Tratamento	Média	Teste Tukey
Parte aérea	<i>Lemna</i>	0.070	a
	<i>Azolla</i>	0.077	a
	Controle	0.077	a
	<i>Landoltia</i>	0.097	b
	<i>Spirodela</i>	0.098	b
Peso Fresco			
	Tratamento	Média	Teste Tukey
Raiz	Testemunha	0.137	a
	<i>Azolla</i>	0.144	a
	<i>Landoltia</i>	0.210	b
	<i>Spirodela</i>	0.214	b
	<i>Lemna</i>	0.215	b
	Tratamento	Média	Teste Tukey
Parte aérea	Testemunha	0.772	a
	<i>Lemna</i>	0.822	a
	<i>Spirodela</i>	0.920	ab
	<i>Azolla</i>	1.022	bc
	<i>Landoltia</i>	1.108	c
Comprimento			
	Tratamento	Média	Teste Tukey
Raiz	Testemunha	12.965	a
	<i>Azolla</i>	13.015	a
	<i>Lemna</i>	13.575	a
	<i>Spirodela</i>	13.805	a
	<i>Landoltia</i>	15.140	a
	Tratamento	Média	Teste Tukey
Parte aérea	Testemunha	13.335	a
	<i>Lemna</i>	13.425	a
	<i>Spirodela</i>	16.215	b
	<i>Azolla</i>	16.390	b
	<i>Landoltia</i>	17.605	b

Anexo 26 - Resultado do Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para o efeito local (a) e sistêmico (b) dos extratos etanólicos de *Lemna* sp., *Landoltia* sp., *Spirodela* sp., *Azolla* sp. (50 mg.mL^{-1}) e Bion® ($0,05 \text{ mg.mL}^{-1}$) na severidade da antracnose (*C. lindemuthianum*) avaliada aos 7 e 12 dias após a inoculação em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Uirapuru).

Efeito local			
	Tratamento	Média	Teste Tukey
7 DAI	Bion	2.430	c
	<i>Landoltia</i>	3.100	b
	<i>Spirodela</i>	3.330	b
	<i>Lemna</i>	3.390	b
	<i>Azolla</i>	3.470	b
	Testemunha	4.925	a
Tratamento	Tratamento	Média	Teste Tukey
12 DAI	Bion	4.200	d
	<i>Azolla</i>	4.880	c
	<i>Spirodela</i>	5.140	c
	<i>Landoltia</i>	5.200	bc
	<i>Lemna</i>	5.730	ab
	Testemunha	5.845	a
Efeito sistêmico			
Tratamento	Tratamento	Média	Teste Tukey
7 DAI	Bion	2.340	b
	<i>Lemna</i>	2.690	b
	<i>Landoltia</i>	2.790	b
	<i>Spirodela</i>	2.840	b
	<i>Azolla</i>	2.900	b
	Testemunha	4.705	a
Tratamento	Tratamento	Média	Teste Tukey
12 DAI	Bion	4.066	d
	<i>Landoltia</i>	5.090	c
	<i>Azolla</i>	5.180	bc
	<i>Spirodela</i>	5.290	abc
	<i>Lemna</i>	5.840	ab
	Testemunha	5.868	a