TRANSMISSÃO DE *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. & MAGN.)
SCRIBNER POR SEMENTES DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) E
SEU CONTROLE ATRAVÉS DE TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO

SÔNIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA
Engenheira Agrônoma

Orientador: Profº Dr. HIROSHI KIMATI

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Uni-
versidade de São Paulo, para obtenção
do título de Doutor em Agronomia,
Área de Concentração: Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Agosto - 1991

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

Oliveira, Sônia Maria Alves
048t Transmissão de Colletotrichum lindemuthianum (SACC. &
MAGN.) Scribner por sementes de feijoeiro (Phaseolus vul-
garis L.) e seu controle através de tratamento químico e
biológico. Piracicaba, 1991.
72p. ilustr.

Tese - ESALQ
Bibliografia.

1. Bactéria para controle biológico 2. Feijão - Semen-
te - Doença 3. Fungo fitopatogênico 4. Semente - Doença -
Controle 5. Semente - Doença - Controle biológico 6. Se-
mente - Tratamento I. Escola Superior de Agricultura Luiz
de Queiroz, Piracicaba

CDD 635.652

TRANSMISSÃO DE *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. & MAGN.)
SCRIBNER POR SEMENTES DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) E
SEU CONTROLE ATRAVÉS DE TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO

SÔNIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA

Aprovada em: 27.09.91

Comissão julgadora:

Profº Dr. Hiroshi Kimati	ESALQ/USP
Profº Dr. José Otávio Machado Menten	ESALQ/USP
Profº Dr. Ivan Paulo Bedendo	ESALQ/USP
Profº Dr. Modesto Barreto	FCAV/UNESP
Dr. Jaciro Soave	IAC

Profº Dr. HIROSHI KIMATI
Orientador

À minha mãe Julia, ao meu marido
José de Ribamar e aos
meus filhos
José de Ribamar Filho e Ana Rafaela

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- . À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela oportunidade oferecida para a realização do curso de Pós-Graduação
- . À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP), Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade **concedida** para realização do curso de Pós-Graduação.
- . À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/PICD), pela bolsa de estudo oferecida.
- . Ao Prof^o Dr. Hiroshi Kimati pela orientação segura e valiosa , bem como pelo apoio e incentivo durante o desenvolvimento desta pesquisa.
- . À Prof.^a Dr.^a Maria Menezes, por tudo que ela representa, não só em escala profissional, mas também pelo apoio, incentivo , estímulo e amizade, em todas as esferas, meus sinceros agradecimentos e minha consideração.
- . Ao Prof^o Odemar Vicente dos Reis, pelas análises estatísticas.
- . Ao Dr. Eduardo A. Bulisani, pelo fornecimento das variedades de feijão.
- . Ao Dr. Wagner Bettiol, pelo fornecimento dos isolados de *B. subtilis*.
- . Aos pesquisadores Ana Maria Q. Lopez, João Tavares Bueno, Maria Heloisa Duarte Moraes e Antônio Carlos Maringoni, pelo valioso apoio e amizade.
- . À todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xi
SUMMARY	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Antracnose do feijoeiro	3
2.2. Transmissibilidade de <i>C. lindemuthianum</i>	6
2.3. Controle químico de <i>C. lindemuthianum</i>	11
2.4. Controle biológico de <i>C. lindemuthianum</i>	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Transmissibilidade de <i>C. lindemuthianum</i> através de sementes de feijão obtidas de plantas inocula- das artificialmente	19
3.1.1. Em condições de campo	19
3.1.1.1. Obtenção e multiplicação do pató- geno	19
3.1.1.2. Variedades de feijão utilizadas e semeadura	20
3.1.1.3. Preparo do inóculo e inoculação das plantas	21
3.1.1.4. Avaliação do experimento	21

3.1.2. Em condições de casa-de-vegetação	22
3.1.2.1. Variedades de feijão utilizadas e semeadura	22
3.1.2.2. Multiplicação, preparo do inóculo e inoculação	23
3.1.2.3. Avaliação do experimento	24
3.2. Transmissibilidade de <i>C. lindemuthianum</i> através de sementes de feijão inoculadas por diferentes métodos	24
3.2.1. Métodos de inoculação de <i>C. lindemuthianum</i> em sementes de feijão	24
3.2.1.1. Método de imersão rápida	24
3.2.1.2. Método de imersão lenta	25
3.2.1.3. Método de contato	25
3.2.2. Avaliação dos métodos de inoculação	26
3.2.2.1. Análise da sanidade de sementes .	26
3.2.2.2. Teste de transmissibilidade	26
3.3. Efeito de fungicidas no controle do <i>C. lindemu -</i> <i>thianum</i> , "in vitro"	27
3.3.1. Obtenção do inóculo	27
3.3.2. Fungicidas e métodos utilizados	27
3.3.3. Avaliação do experimento	28
3.4. Efeito de <i>B. subtilis</i> no controle de <i>C. lindemu -</i> <i>thianum</i> , "in vitro"	28
3.5. Comparação entre fungicidas e isolados de <i>B. sub -</i> <i>tilis</i> no controle de <i>C. lindemuthianum</i> , "in vivo!"	29
3.5.1. Fungicidas	29
3.5.1.1. Em condições de laboratório	29
3.5.1.2. Em condições de casa-de-vegeta - ção	30
3.5.2. Isolados de <i>B. subtilis</i>	30

4. RESULTADOS	32
4.1. Transmissibilidade de <i>C. lindemuthianum</i> através de sementes de feijão obtidas de plantas inoculadas artificialmente	32
4.1.1. Em condições de campo	32
4.1.1.1. Peso das sementes	32
4.1.1.2. Análise de sanidade de sementes	32
4.1.2. Em condições de casa-de-vegetação	36
4.2. Transmissibilidade de <i>C. lindemuthianum</i> através de sementes de feijão inoculadas por diferentes métodos	39
4.2.1. Avaliação dos métodos pela análise de sanidade de sementes	39
4.2.2. Avaliação dos métodos pelo teste de transmissibilidade em casa-de-vegetação	40
4.3. Efeito de fungicidas no controle de <i>C. lindemuthianum</i> , "in vitro"	41
4.4. Efeito de isolados de <i>B. subtilis</i> no controle de <i>C. lindemuthianum</i> , "in vitro"	45
4.5. Comparação entre fungicidas e isolados de <i>B. subtilis</i> no controle de <i>C. lindemuthianum</i> , "in vivo"	45
4.5.1. Em condições de laboratório	45
4.5.2. Em condições de casa-de-vegetação	49
5. DISCUSSÃO	53
6. CONCLUSÕES	60
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

LISTA DE TABELAS

Página

1. Produtividade de sementes oriundas das variedades de feijão, inoculadas e não inoculadas com <i>C. lindemuthianum</i> , em condições de campo	33
2. Incidência de fungos em sementes de feijão oriundas de plantas inoculadas e não inoculadas com <i>C. lindemuthianum</i>	35
3. Incidência de fungos em sementes de feijão sem sintomas externos, oriundas de plantas inoculadas e não inoculadas com <i>C. lindemuthianum</i>	37
4. Incidência de <i>C. lindemuthianum</i> em sementes de três variedades de feijão, inoculadas após a semeadura, em três estádios distintos de desenvolvimento, em condições de casa-de-vegetação	38
5. Incidência de <i>C. lindemuthianum</i> em sementes da variedade Lustroso, após inoculação com este patógeno, através de três métodos diferentes	39
6. Plântulas com sintomas, sem sintomas e sementes não germinadas da variedade Lustroso, após inoculação com <i>C. lindemuthianum</i> , através de três métodos distintos.	40
7. Efeito de fungicidas na inibição do crescimento micelial de <i>C. lindemuthianum</i> , "in vitro"	42
8. Inibição "in vitro" do crescimento micelial de <i>C. lindemuthianum</i> , por quatro fungicidas	44

9. Inibição de <i>C. lindemuthianum</i> , em BDA, por 26 isolados de <i>B. subtilis</i>	47
10. Incidência de <i>C. lindemuthianum</i> em sementes da variedade Lustroso, inoculadas com este patógeno e tratadas com quatro fungicidas e dois isolados de <i>B. subtilis</i> .	50
11. Plântulas com sintomas, sem sintomas e sementes não germinadas da variedade Lustroso, inoculadas com <i>C. lindemuthianum</i> e tratadas com quatro fungicidas e dois isolados de <i>B. subtilis</i>	51

LISTA DE FIGURAS

Página

1. Efeito dos diferentes fungicidas na inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, em três concentrações (1(a), 10(b) e 100(c) ppm.) 43
2. Efeito de quatro fungicidas utilizados na inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, em três concentrações (0,01(a), 0,1(b) e 1(c) ppm.) 46
3. Comportamento dos isolados de *B. subtilis* em relação a redução do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*. 48
4. Efeito de fungicidas e isolados de *B. subtilis* sobre as plântulas sem sintomas (a); plântulas com sintomas (b); e sementes não germinadas(c), causados por *C. lindemuthianum* 52

TRANSMISSÃO DE *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. & MAGN.)
SCRIBNER POR SEMENTES DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) E
SEU CONTROLE ATRAVÉS DE TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO

Autora: SÔNIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA

Orientador: Prof^o Dr. HIROSHI KIMATI

RESUMO

A transmissão planta-semente de *Colletotrichum lindemuthianum*, raça α , foi estudada em parcelas de campo inoculadas e não inoculadas, utilizando seis variedades de feijão (Lustroso, Aetê-3, Carioca Pitoco, Paininha (Bainha Vermelha), Carioca Comum e Bico de Ouro (Bainha Preta)). A avaliação sanitária das sementes, pelo método do papel de filtro, mostrou zero de incidência de *C. lindemuthianum* nas variedades Paininha e Bico de Ouro, e um máximo de 6% de incidência na variedade Lustroso. Sob condições de casa-de-vegetação, plantas das variedades de feijão Lustroso, Paininha e Bico de Ouro foram inoculadas com uma suspensão de conídios de *C. lindemuthianum*, aos 30, 45 e 60 dias após a sementeira, para determinar a relação entre idade da planta e a eficiência na transmissão planta-semente. A melhor transmissão do fungo foi obtida com inoculação aos 45 dias, na variedade Lustroso.

Três métodos de inoculação artificial de sementes de feijão com *C. lindemuthianum* (imersão rápida e prolongada em suspensão de conídios e contato com a superfície da colônia sobre meio agarizado) foram testados para obter quantidade adequada de sementes contaminadas da variedade Lustroso. O terceiro método foi o mais eficiente.

Testes de inibição "in vitro", com 13 fungicidas e 26 isolados de *B. subtilis*, mostraram que os produtos quí

micos e as bactérias mais inibitórias foram, respectivamente, benomyl e prochloraz e os isolados AP 114 e AP 332. O tiofanato metílico seguido do benomyl e fentin hidroxide tiveram melhor desempenho do que os dois isolados de *B. subtilis* em tratamento de sementes visando controlar *C. lindemuthianum*.

SEED TRANSMISSION OF *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. & MAGN.) SCRIBNER IN BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) AND ITS CONTROL BY CHEMICAL AND BIOLOGICAL TREATMENT

Author: SÔNIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA

Adviser: PROF^º DR. HIROSHI KIMATI

SUMMARY

Plant-seed transmission of *Colletotrichum lindemuthianum*, race α , was studied in inoculated and not inoculated field plots of six bean cultivars (Lustroso, Aet-3, Carioca Pitoco, Paininha (Bainha Vermelha), Carioca Comum and Bico de Ouro (Bainha Preta)). The seed evaluation for health, carried out through the "blotter test", showed zero incidence of *C. lindemuthianum* in cvs. Paininha, and Bico de Ouro, and maximum of 6% incidence in cv. Lustroso. Under greenhouse conditions, plants of bean cultivars Lustroso, Paininha, and Bico de Ouro were inoculated with a conidial suspension of *C. lindemuthianum* at 30, 45, and 60 days after sowing, in order to determine the relation between plant age and efficiency of plant-seed transmission. The best transmission of the fungus was obtained with inoculation of the variety Lustroso at 45 days.

Three methods of artificial inoculation of bean seeds with *C. lindemuthianum* (fast and prolonged immersion in conidial suspension, and contact with the colony surface on agar medium) were assayed for obtaining an adequate amount of contaminated seeds of cv. Lustroso. The third method was the most efficient,

In vitro inhibition tests, with 13 fungicides and 26 isolates of *B. subtilis* showed that the most

inhibitory chemicals and bacteria were benomyl and prochloraz and AP 114 and AP 332 isolates, respectively. The methyl thiophanate, benomyl, and fentin hidroxide performed better than the two *B. subtilis* isolates in seed treatments for controlling *C. lindemuthianum*.

1. INTRODUÇÃO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é considerado uma das mais importantes culturas agrícolas, constituindo-se num dos alimentos básicos da população, não só do Brasil, como também de outros países da América Latina, devido ao seu alto valor proteico e energético (VIEIRA, 1967).

Como principais produtores brasileiros destacam-se Paraná, São Paulo, Santa Catarina, Minas Gerais e Bahia, apresentando produções em 1987 de 391.355, 291.450, 268.734, 224.357, e 149.705 t., respectivamente (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, 1989).

Várias são as doenças que ocorrem no feijoeiro, limitando o seu desenvolvimento acarretando com isso prejuízos de importância econômica, dependendo da variedade cultivada, da raça do patógeno em questão e das condições climáticas predominantes na região.

Dentre as doenças induzidas por microrganismos destaca-se a antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Sclerotinia (*Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld & Schrenk f. sp. *phaseoli* Kimati) como sendo uma das mais sérias do feijoeiro no Brasil, podendo ocasionar perdas totais da lavoura, quando afeta as plantas suscetíveis nos primeiros estádios de desenvolvimento. Esta enfermidade ocorre no mundo todo, em regiões de temperaturas moderadas a frias, com alta umidade relativa do ar. Causa perdas de grande vulto em diversos países como o México, Costa Rica, Venezuela, Colômbia, Austrália, Brasil e outros da Ásia e África, podendo atingir a

ordem de 100% quando as condições são favoráveis ao desenvolvimento do patógeno (GUZMAN *et al.*, 1979b; CHAVES, 1980), principalmente em anos bastante chuvosos (GARZA, 1951). Na Tanzânia as perdas devidas principalmente a antracnose, são da ordem de 86% nas cultivares mais suscetíveis (SHAO & TERI, 1985). Em Viçosa-MG foi relatada redução na produção de até 67,6% (ZAMBOLIM & CHAVES, 1978).

Os sintomas da doença podem ser visualizados em toda a parte aérea da planta, afetando caule, folhas, pecíolos, vagens e sementes, sendo esta última a principal via de disseminação, principalmente a longa distância (KIMATI, 1980), constituindo também num dos veículos mais importantes de transmissão de patógenos, os quais podem estar localizados na sua superfície externa ou mais internamente na semente. O sucesso de uma boa produção depende, em grande parte, da utilização de sementes saudáveis ou com baixa capacidade de transmissão de patógenos.

O tratamento das sementes por métodos químico e biológico, reveste-se de maior importância por possibilitar proteção das mesmas contra patógenos por elas veiculados e também presentes no solo, reduzindo a quantidade de inóculo inicial no campo e reduzindo assim a ocorrência da doença em grande intensidade.

Devido a importância da antracnose na cultura do feijoeiro, conduziu-se esta pesquisa visando avaliar a transmissibilidade de *C. lindemuthianum* em diferentes variedades; testar a eficiência de diferentes fungicidas e isolados de *Bacillus subtilis* "in vitro" e "in vivo" no controle químico e biológico deste patógeno através do tratamento de sementes do feijoeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ANTRACNOSE DO FEIJOEIRO

A antracnose causada pelo fungo *C. lindemuthianum* foi descrita pela primeira vez por Saccardo em 1878, no Agricultural Institute of Poppelsdorf em Bonn-Alemanha. A denominação antracnose foi usada pela primeira vez por Scriber em 1888, embora tenha sido utilizado primeiramente para designar o grupo de doenças causadas pelo fungo *Gloeosporium ampelophagum* Sacc. (BARRUS, 1921).

Sabe-se que o agente da antracnose do feijoeiro recebeu várias denominações como *Gloeosporium lindemuthianum* Saccardo & Magnus (1878); *Septoria leguminum* Desm. (1882); *S. leguminum* Desm. var. *phaseolorum* Roum (1884); *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Briosi & Cavara (1889); *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scriber (1889); *Gloeosporium phaseoli* Ch. Rich. (1889); *C. lagernarium* (Pass.) Ellis & Halsted (1893); *G. lindemuthianum* Sacc. & Magn. forma *foliicolum* Allesch (1894) e *C. lindemuthianum* (Sacc. & magn.) Cavara f. *brachysporum* (1904), sendo hoje a nomenclatura aceita e mundialmente empregada *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scriber por vários autores (BARRUS, 1921; HARTER & ZAUMEYER, 1944; STEVENSON, 1956; SARTORATO, 1988).

O patógeno, na fase anamórfica, pertence à classe dos Deuteromicetos, ordem Melanconiales, família Melanconiaceae. Apresenta micélio septado e ramificado, variando a sua coloração de hialino a escuro, quando atinge a maturidade. Os conídios são hialinos, unicelulares, ovais ou oblongos, cilíndricos, arredondados ou em forma de S. Em condições favoráveis, produzem um tu

bo germinativo curto, em cuja extremidade forma-se um apressório. Os conídios são produzidos em acêrvulos em conidióforos curtos e hialinos. Setas podem surgir entre os conidióforos ou nas margens dos acêrvulos, rígidas, septadas e pontiagudas.

O teliomorfo ou fase sexual pertence à classe dos Ascomicetos, subclasse Euascomicetidae, série Pirenomicetos, ordem Diaportales, família Diaportaceae, sendo inicialmente denominado de *Glomerella lindemuthianum* Shear & Wood, 1913 (BARRUS, 1921) e mais recentemente mudado para *Glomerella cingulata* (Stenem.) Spauld & Schrenk f. sp. *phaseoli* Kimati (KIMATI & GALLI, 1970), conseguida através de condições especiais de laboratório.

A antracnose ocorre numa faixa de temperatura de 13 a 26°C, apresentando ótimo desenvolvimento a 17°C, sendo que temperaturas maiores que 30°C limitam a infecção e desenvolvimento do fungo, uma vez que este não produz esporos ou produz poucos, mas anormais. Do mesmo modo, este requer umidade em torno de 95% e chuvas a intervalos frequentes, a fim de ocorrer tanto a disseminação como a dissolução da matriz gelatinosa que envolve os acêrvulos (BARRUS, 1921; HARTER & ZAUMEYER, 1944; WALKER, 1952; CHAVES, 1980; KIMATI, 1980).

Como as condições climáticas de um continente ou região influenciam o desenvolvimento desta enfermidade, em alguns lugares, mesmo tendo sido constatada, não foi importante e em outros tornou-se uma séria doença do feijoeiro (TU, 1983).

Na Costa Rica, onde predominam as raças α , β e γ a antracnose ocorre nas zonas subtropicais e montanhosas, não se verificando na zona tropical, devendo-se este fato às altas temperaturas observadas (ECHANDI, 1976). As raças β e γ possuem uma ampla faixa de temperatura ótima para causarem infecção sobre feijoeiro. Após 72 horas à temperatura de 10°C ou 32°C em câmara de incubação, não obteve-se qualquer infecção nas plantas com nenhuma das três raças acima mencionadas (MARTINEZ - SALAZAR & ANDERSEN, 1957). Na área produtora de feijão no Agreste Pernambucano, esta enfermidade inicia-se entre a segunda quin

zena de maio e a primeira de junho, coincidindo com abaixamento de temperatura (18°C-20°C) e aumento da umidade relativa do ar (COSTA *et al.*, 1982).

O desenvolvimento e severidade da doença são frequentemente reduzidos por temperaturas altas, porém TU (1982) observou no Sudoeste de Ontário-Canadá que temperaturas de verão (25°C-35°C) não foi um fator limitante ao desenvolvimento da antracnose, uma vez que estas temperaturas altas geralmente ocorriam somente durante poucas horas do dia e as temperaturas baixas noturnas permitiam o surgimento da infecção e dos sintomas. Quando a temperatura atingia por curto espaço de tempo 25°C-35°C apresentava pouco efeito sobre a infecção.

A longevidade do *C. lindemuthianum* depende basicamente das condições ambientais às quais é exposto, uma vez que a umidade relativa possui um efeito bastante acentuado sobre este fungo. O patógeno sobreviveu durante 5 anos sobre sementes e vagens armazenadas a uma temperatura de 4°C sob condições de baixa umidade relativa, uma vez que a rápida diminuição da viabilidade do fungo em condições úmidas é atribuída em parte a perda da matriz mucilaginosa que é solúvel em água (TU, 1988). O fungo sobrevive por um período de dois anos em sementes e plantas infectadas (BARRUS, 1921; VIEIRA, 1967). A doença afeta as plantas do feijoeiro em todos os estádios de desenvolvimento, encontrando-se em todas as áreas de cultivo no mundo, exceto em regiões secas (KULIK, 1984), visto que o *C. lindemuthianum* é bastante sensível as condições ambientais, desaparecendo com rapidez em condições de calor e seca (VIEIRA, 1967).

Os sintomas da antracnose podem surgir em toda a parte aérea da planta. Nas sementes ocorrem cancrios deprimidos, amarelados e castanhos, de tamanhos variados, podendo tomar grande parte da semente. Em infecções severas pode afetar o embrião (KULIK, 1984) e estender-se através do tegumento até os cotilédons.

nes, permanecendo nestes, em forma de micélio dormente (ZAUMEYER & THOMAS, 1957; ZAMBOLIM & CHAVES, 1978). No pecíolo e caule formam-se cancros ovalados, deprimidos de cor marrom, crescendo longitudinalmente no caule, enfraquecendo este sob condições ambientais favoráveis, de tal modo que o caule torna-se incapaz de suportar a copa da planta. Nas folhas, as nervuras na face inferior adquirem uma cor púrpura ou avermelhada que mais tarde torna-se de cor café escura a negra. Em ataque severo da doença formam-se manchas necrosadas nos tecidos adjacentes às nervuras das folhas (ZAUMEYER & THOMAS, 1957; VIEIRA, 1967; ZAMBOLIM & CHAVES, 1978; KIMATI, 1980). Nas vagens, onde mais evidenciam-se os sintomas da doença pela facilidade de visualização, as lesões são deprimidas, arredondadas, de coloração escura e tamanho variado. Com o desenvolvimento da moléstia, estas coalescem tomando grande parte da superfície das vagens e quando as condições ambientais são favoráveis, surge no centro destas lesões uma massa de cor rósea constituída de aglomerações de esporos do fungo, chegando em muitos casos a atingir as sementes (ZAUMEYER & THOMAS, 1957; FIGUEIREDO, 1965; VIEIRA, 1967; CHAVES, 1980; KIMATI, 1980). Quando as sementes infectadas germinam, o fungo atinge os cotilédones e destes, a infecção estende-se à toda parte aérea da planta (VIEIRA, 1967).

2.2. TRANSMISSIBILIDADE DE *C. lindemuthianum*

A disseminação de organismos patogênicos pelas sementes constitui-se num meio bastante eficiente entre as diferentes áreas e regiões de cultivo do feijão no mundo, isto porque assegura sua introdução em áreas isentas. As sementes infectadas constituem-se em focos primários de infecção, permitindo o surgimento da doença nos primeiros estádios de

desenvolvimento. Essa via de disseminação é importante, uma vez que os patógenos encontram-se ligados ao hospedeiro, mantendo a sua patogenicidade inalterada por mais tempo (BAKER, 1979; TANAKA & MACHADO, 1985; MENTEN, 1986).

A maioria das culturas destinadas à produção de alimentos está sujeita ao ataque de doenças, sendo grande parte dos seus agentes etiológicos transmitidos pelas sementes. No caso específico do feijoeiro mais de 50% das suas principais enfermidades, tem seus agentes causais transmitidos através das sementes (NEERGAARD, 1979).

A associação de microrganismos com sementes é de vital importância em função dos danos que eles podem provocar às plantas oriundas destas, como morte de pré e pós emergência, podridões radiculares, tombamentos, necrose no caule, folhas, inflorescências e frutos, bem como afetar a quantidade e qualidade do produto final. Estruturas do patógeno presentes nas sementes constituem-se no inóculo primário para o surgimento de epidemias, além do agravante de que nas sementes o inóculo fica viável por um bom período de tempo quando estão armazenadas (MACHADO, 1988).

Vários são os fatores que influenciam na transmissão, como a quantidade de inóculo, microflora do solo bem como da própria semente, fatores físicos do solo e o tempo de sobrevivência do patógeno na semente (TANAKA & MACHADO, 1985). Desta forma, uma semente infectada não garante a transmissão do patógeno, porque além de fatores ambientais ~~devem ser também~~ considerados aqueles ligados diretamente ao hospedeiro e patógeno. Assim, a incidência da doença varia bastante entre lotes de sementes (BARBUS, 1921).

Mesmo quando as sementes são produzidas num campo com total controle de doenças, medidas complementares tais como o beneficiamento, tratamento químico e catação manual, eliminando-se as sementes manchadas, enrugadas, etc., devem ser realizadas para melhorar a qualidade sanitária das mesmas (MENEZES, 1986). A má condição sanitária de lotes de sementes pode afetar a germi

nação, vigor, emergência e produtividade, atuando também na perpetuação e disseminação dos patógenos (MENTEN, 1978).

Existem patógenos que são facilmente transmitidos pelas sementes, mas as doenças que causam não são importantes a nível de perdas de produção. O mesmo não ocorre com respeito a *C. lindemuthianum*, que possui baixa taxa de transmissão, devido aos vários eventos complexos existentes na transmissão para uma única semente entre 1000. Nestas, porém, o patógeno é capaz de produzir milhões de esporos, suficientes para iniciar uma epidemia desde que as condições ambientais sejam favoráveis. Dependendo das exigências climáticas inerentes a cada patógeno, as plantas, para a produção de sementes saudáveis, podem ser cultivadas tanto em regiões semi-áridas, como em temperaturas amenas, não esquecendo de que muitas vezes a temperatura ideal ao patógeno coincide com a do hospedeiro (BAKER, 1979).

Sendo a antracnose a principal doença do feijoeiro nas regiões úmidas com temperaturas frias a moderadas, o controle é geralmente obtido semeando-se sementes livres do patógeno. Em regiões com períodos chuvosos definidos e longos períodos de estiagem é possível produzir sementes de alta qualidade, como no caso do Brasil Central, Norte de São Paulo, Minas Gerais e Regiões do Nordeste Brasileiro (VIEIRA, 1967).

Em geral, os agricultores na América Latina guardam as sementes de um cultivo para outro, logo o inóculo primário levado pelas sementes pode ser o início de uma epidemia, particularmente quando persistem as condições ambientais favoráveis ao patógeno. Por muito tempo a antracnose era uma enfermidade de grande importância econômica nos Estados Unidos da América, uma vez que sementes eram produzidas em regiões onde predominavam condições bastante favoráveis a *C. lindemuthianum*, porém, a partir do momento em que passaram a utilizar sementes saudáveis e variedades resistentes, esta doença passou para um plano secundário de importância econômica (GUZMAN et al., 1979b).

Plântulas originadas de sementes infectadas apresentam cotilédones, hipocótilos e folhas primárias doentes, onde o *C. lindemuthianum* tende a esporular, produzindo com isso inóculo para uma infecção secundária (MACHADO, 1988).

Dados sobre influência do inóculo primário são essenciais para determinar os limites de tolerância de *C. lindemuthianum* nas sementes de um lote comercial, as práticas de tratamento destas, bem como formulações de fungicidas para o controle da antracnose, tanto da parte aérea como das sementes (ARAYA *et al.*, 1987). Segundo estes autores, o inóculo proveniente da introdução de sementes infectadas torna-se muito importante para a dispersão do patógeno e que o modelo desta dispersão do patógeno, tanto de uma planta para a outra, como entre partes da mesma planta, depende de chuvas, tendo observado que a influência deste inóculo sobre a ocorrência da antracnose nas folhas foi mais alta durante a estação chuvosa do que na estação seca, enquanto que nas vagens, foi maior em condições de seca. Quanto à sanidade das sementes, no período de seca foi obtida maior porcentagem de transmissão, mostrando com isso uma forte relação entre infecção de vagens e de sementes, visto que neste período as vagens foram altamente infectadas pelo patógeno. Ressalta-se com isso a importância de avaliação da doença sobre as vagens dentro de um programa visando a produção de sementes saudáveis. Contrariando esta constatação, em trabalhos anteriores, ARAYA *et al.* (1985 e 1986) verificaram que a porcentagem de transmissão de *C. lindemuthianum* foi maior em época chuvosa do que na seca, tendo obtido correlação positiva significativa entre a porcentagem de vagens infectadas e transmissão de fungos para as sementes, o mesmo não ocorrendo entre a incidência nas folhas e a transmissão.

DHINGRA *et al.* (1986) estudaram a relação entre a incidência da antracnose no campo e a produção de sementes transportando o patógeno em questão, em duas regiões, Viçosa e Coimbra, durante as estações chuvosa e seca. Verificaram os autores que a proporção

variou de 0 a 4,16% de sementes portando *C. lindemuthianum*, dependendo do local e da estação, sendo menor na estação chuvosa. Não observaram relação com a proporção de doenças sobre as vagens. O mesmo foi verificado por LASCA *et al.* (1980) e SHYAM & CHAKRA - BORTY (1985) que não encontraram correspondência entre a infecção na cultura e nas sementes produzidas. Resultados semelhantes foram obtidos por SANTOS *et al.* (1986) que observaram que dentre os fungos transportados, através das sementes do feijoeiro no Estado do Espírito Santo, *C. lindemuthianum* encontrava-se numa proporção muito pequena nas 133 amostras analisadas (2,72%), embora a incidência da doença sobre as plantas fosse muito alta.

TU (1983) verificou que o grau de transmissão pelas sementes depende da severidade de infecção e densidade conidial presente nas mesmas, ou seja, quanto maior a concentração de inóculo sobre as sementes, maior a transmissão, uma vez que nem todas são capazes de transmitir o patógeno.

Analizando 434 amostras de sementes de feijão de 43 variedades procedentes de 124 municípios do Estado do Paraná, MENEZES *et al.* (1978 e 1981) demonstraram que 20% das sementes apresentavam problemas na germinação, 13% encontravam-se infectadas com fungos ou bactérias e 7% com outras anormalidades. O fungo *C. lindemuthianum* foi detectado em 14,9% das amostras, variando de 0,5 a 6,5% de infecção, e que a maior parte destas sementes conseguiram germinar, mas com lesões localizadas nos cotilédones e hipocótilos ou ambos, constituindo-se em importantes fontes primárias da doença. Os mesmos pesquisadores, citaram que a antracnose é uma das principais doenças do feijoeiro no Paraná, causando reduções de até 48% no rendimento da cultura.

Através de inoculação artificial direta sobre as vagens, em três épocas distintas de desenvolvimento, ou seja, sementes em formação, sementes formadas e início de maturação fisiológica, em duas cultivares, Tayhú (moderadamente suscetível) e Tambó (suscetível), BASTOS & PORTO (1982) observaram que não foi registrada a transmissão de *C. lindemuthianum* pelas sementes da

primeira cultivar mencionada. Na Tambó, segundo o teste do papel de filtro, a incidência nas sementes foi de 33,33%; 25,00% e 20,83%, e pelo teste em papel toalha, foi de 20,00%; 11,25% e 10,00%, respectivamente para as três épocas. O patógeno manifestou-se nas plântulas e reduziu a germinação, bem como houve relação entre as vagens infectadas e o transporte via semente.

O nível ideal de tolerância para as doenças transmitidas pelas sementes deveria ser zero, porém considerando-se o atual estágio de desenvolvimento tecnológico da agricultura no país, falta de insumos e de conscientização dos agricultores sobre a importância do uso de sementes sadias, torna-se muito difícil a produção desse tipo de semente (sementes completamente isenta de microrganismos patogênicos) em quantidade suficiente, a fim de atender as necessidades do mercado consumidor. Algumas medidas poderiam ser adotadas como a obtenção de variedades resistentes, produção de sementes em áreas isoladas, inspeções de campo produtores de sementes, eliminação de plantas doentes e o controle químico tanto nas sementes como na parte aérea (BAKER, 1979; ELLIS & GALVEZ, 1980; MENEZES, 1986). Como foi observado por TU (1986), a simples introdução de sementes sadias ou tratadas, inspeção de sementes foram suficientes para eliminar a antracnose do feijoeiro no ano de 1981, na região de Ontário.

2.3. CONTROLE QUÍMICO DE *C. lindemuthianum*

O controle da antracnose do feijoeiro utilizando substâncias químicas (fungicidas) é uma alternativa a curto prazo, a fim de obter-se uma elevação da produção nas regiões onde esta doença ocorre de forma epidêmica. Por ser a doença tão importante é que muitos trabalhos foram desenvolvidos visando um controle efetivo, através de pulverizações na parte aérea das plantas, como também pelo tratamento das sementes.

Em ensaios de campo com os fungicidas Elosal, Dithane M-22, Sapro1, Daconil 2787, Benlate e Difolatan 80, inici-

ando as pulverizações 20 dias após o plantio, quando do surgimento dos primeiros sintomas, NAVARRO & PUERTA (1977) observaram que o Benlate e Difolatan 80 ofereceram melhor controle da antracnose sobre as vagens, obtendo a produção máxima com o Benlate, na dosagem de 0,5 g/l e com o Daconil 2787 a 2,4 g/l.

Conforme relatado por BAUMGART & PORTO (1978), um dos fatores que concorrem para o baixo rendimento da cultura do feijoeiro no Rio Grande do Sul como em outros Estados Brasileiros, é a ocorrência de doenças, destacando-se a antracnose. Por esse motivo, os autores montaram um experimento a nível de laboratório, com os produtos benomyl, captan, chlorothalonil, maneb, thiabendazol e thiram, a fim de avaliar a fungitoxicidade destes contra *C. lindemuthianum* nas concentrações de 1, 5, 10 e 50 ppm, cujos resultados apontaram o thiram como o melhor entre eles, visto inibir o desenvolvimento do fungo já na concentração mais baixa (1 ppm).

Para GUZMAN *et al.* (1979a), o objetivo principal no uso de produtos químicos para o controle da antracnose é, sem sombra de dúvida, aumentar a produtividade da cultura do feijoeiro. Em condições chuvosas, os fungicidas sistêmicos mostraram-se mais efetivos devido principalmente a sua rapidez de penetração nas plantas. Em experimentos desenvolvidos na Colombia com fungicidas sistêmicos e protetores, os autores obtiveram um controle adequado desta doença com o Benlate (benomyl) e Derosal 60 (chloroneb), sob condições altamente favoráveis ao desenvolvimento do fungo. Segundo eles, nas regiões onde a doença é endêmica e as condições menos propicias a *C. lindemuthianum*, os fungicidas protetores como Dithane M-45 (mancozeb), Brestan 60 (fentin acetato) e Daconil 2785 (chlorothalonil) permitiram um controle eficiente e mais econômico, uma vez que são produtos de custo mais barato que os dois primeiros.

Considerando-se os trabalhos de TU & JARVIS (1979a, b), dos três fungicidas por eles testados, pertencentes ao grupo químico dos benzimidazois, Easout (tiofanato metílico) e Benlate

mostraram-se mais efetivos, e com o aumento na concentração destes, ocorreu redução tanto na germinação como na sobrevivência dos esporos de *C. lindemuthianum*, raça Δ . Não houve diferença no crescimento e morfologia da colônia, bem como na patogenicidade demonstrada pelos isolados do fungo, quando recuperados tanto do meio de cultura contendo benomyl, como da colônia original. Entretanto, quando esse foi cultivado em meio com o fungicida em questão, produziu estruturas semelhantes a escleródios, formadas em resposta ao estresse imposto pelo benomyl, sendo esta a primeira narrativa do desenvolvimento dessa estrutura por *C. lindemuthianum*.

Quando TU & McNAUGHTON (1980) utilizaram baixas concentrações de benomyl houve aumento da frequência de biótipos da raça Δ , tolerantes ou resistentes ao produto em Ontário, onde as raças predominantes eram α , β e γ .

No município de Vargem Grande do Sul utilizando a variedade Carioca, o melhor controle da antracnose foi obtido com o chlorothalonil 50%, na dosagem de 2,5 l/ha, em pulverizações (ROLIM *et al.*, 1980 e 1981b), sendo este resultado semelhante ao obtido com a variedade Aroana por ROLIM *et al.* (1981a).

Em experimentos de campo visando o controle da antracnose e mancha angular (*Isariopsis griseola* Sacc.) com os fungicidas mancozeb 80% (2 Kg/ha); propineb 70% (2 Kg/ha); captafol 39% (2 l/ha); benomyl 50% (0,5 Kg/ha); carboxin 75% (2,5 Kg/ha); captafol 37% (1 l/ha) + benomyl 50% (0,3 Kg/ha); chlorothalonil 25% + oxicloreto de cobre 30% (3,5 Kg/ha), maneb 10% + oxicloreto de cobre (2 Kg/ha) e mancozeb (1 Kg/ha) + carboxin (1,25 Kg/ha), ISSA *et al.* (1981) verificaram que o benomyl e a mistura benomyl + captafol comportaram-se como os melhores para ambas as doenças, resultado que coincide com o obtido por NAVARRO *et al.* (1981a) e NAVARRO & PUERTA (1983) e que mancozeb, propineb, chlorothalonil e captafol também controlaram as doenças, principalmente a antracnose.

Em ensaio conduzido na estação chuvosa com o fun-

gicida maneb em quatro pulverizações em intervalos de 10 e 15 dias e combinando-se esses intervalos, ISSA (1983) obteve melhor controle da antracnose, quando começou o tratamento aos 10 dias, indicando com isso que é importante iniciar as pulverizações na primeira metade do ciclo do feijoeiro, uma vez que se sabe que esta moléstia pode causar perdas maiores quando ocorre em plantas jovens.

Comparando o efeito de fungicidas no controle de doenças foliares do feijoeiro, GOULART (1989a) observou que o melhor controle de *C. lindemuthianum* foi obtido com o produto tolyfluanid na dosagem de 0,75 e 1,0 Kg de i.a./ha, sendo a antracnose de menor incidência em relação a mancha angular e a ferrugem (*Uromyces phaseoli* (Reb.) Wint. var. *typica* Arth.).

Dentre os vários fungicidas utilizados por diversos pesquisadores, destacou-se consistentemente o emprego de benomyl sozinho, que além de controlar eficientemente a antracnose, proporcionou aumento significativo na produtividade (SINDHAN & BOSE, 1981; GOMES *et al.*, 1982; SILVA & LOCH, 1982; BASHIR *et al.*, 1985; SHAO & TERI, 1985), ou em mistura com captafol (NAVARRO *et al.*, 1981b; ISSA *et al.*, 1983) ou mancozeb (NAVARRO *et al.*, 1981b; ISSA, 1985) ou fentin hidroxide (NAVARRO *et al.*, 1981b).

O tratamento químico das sementes é uma das medidas mais simples e eficiente de controle de microrganismos transportados e transmitidos pelas mesmas, relativamente econômico e que pode resultar em aumento de produtividade da cultura. Visa não apenas a eliminar o patógeno na semente, bem como proteger estas e as plântulas contra possíveis microrganismos presentes no solo (MACHADO, 1986), podendo melhorar a germinação e emergência em campos de lotes de sementes com níveis moderados de infecção (ELLIS *et al.*, 1976a; ELLIS & GALVEZ, 1980; MAZER *et al.*, 1990).

A preocupação com o inóculo transportado através das sementes vem de algumas décadas atrás, como é o caso do trabalho de ANDERSEN (1952) que testando 30 fungicidas, observou que o Vancide 51 foi o único a controlar efetivamente a antracnose

do feijoeiro, quando usado sobre as sementes visivelmente infectadas. Vários outros trabalhos surgiram com o mesmo intuito de se eliminar o inóculo já a partir das sementes.

Um grande número de fungos são transportados internamente e associados às sementes do feijoeiro, sendo favorecidos por colheitas tardias após a maturação das mesmas. A colheita realizada imediatamente após a maturação, resultará numa alta qualidade da semente (ELLIS & SINCLAIR, 1976; ELLIS *et al.*, 1979) do mesmo modo quando se protege as plantas através dos fungicidas. Nesta linha de pesquisa ELLIS *et al.* (1976a) verificaram que a porcentagem de fungos nas sementes foi superior em plantas de feijoeiro não tratadas do que tratadas com os produtos benomyl, oxicarboxin e benomyl + oxicarboxin. A invasão destas por fungos foi maior em todos os tratamentos quando as plantas foram colhidas quatro semanas após a maturação, atingindo 100% em plantas não tratadas, colhido com três semanas após a maturação.

TANAKA & JUNQUEIRA NETO (1982), visando a obtenção de sementes de feijoeiro de boa qualidade sanitária através do uso de fungicidas na parte aérea, verificaram que o tiofanato metílico (Cercobin M-70) na dosagem de 50 g/100 l de água foi mais eficiente, uma vez que estas apresentaram menor incidência de fungos. Por outro lado, o carboxin 75% (Vitavax 75 PM) não ofereceu um controle desejável da antracnose, igualando-se a testemunha.

Avaliando o efeito dos fungicidas benomyl, mancozeb, tiofanato metílico, captafol e chlorothalonil sobre a germinação, vigor e produção de sementes das cultivares Carioca Comum e Carioca 80, ITO *et al.*, (1986) concluíram que nenhum dos fungicidas, acima mencionados, diminuiu a porcentagem de sementes infectadas com *C. lindemuthianum*, sendo que a Carioca 80 apresentou uma porcentagem média de 0,6% de sementes contaminadas e Carioca Comum de 2,05%, contrariando constatações anteriores.

FURLAN (1988), tratando sementes de feijão com os

fungicidas euparem, moncerem + captan, moncerem + euparem e thiram em experimentos à nível de campo, observou que todos os tratamentos reduziram a incidência da antracnose, sendo que o thiram apresentou os melhores resultados no controle de *C. lindemuthianum*.

A eliminação de muitos patógenos associados às sementes do feijoeiro são bem sucedidas através do uso de fungicidas sistêmicos, especialmente aqueles pertencentes ao grupo químico dos benzimidazois, destacando-se o benomyl no controle do *C. lindemuthianum* (ELLIS *et al.*, 1976b; BARROS *et al.*, 1980; SINDHAN & BOSE, 1981; MACHADO *et al.*, 1985; MACHADO, 1986; GOULART, 1989b; MAZER *et al.*, 1990), embora para TU (1988) os benzimidazois não sejam suficientes para tratar sementes bastante lesionadas.

2.4. CONTROLE BIOLÓGICO DE *C. lindemuthianum*

O controle biológico pode apresentar como vantagens, ser um método economicamente viável no controle de organismos patogênicos, reduzindo a quantidade de produtos químicos sintéticos que poluem o meio ambiente. Entretanto, este tipo de controle ainda não possui tecnologia adequada para aplicação em massa à todos os tipos de organismos, nem tão pouco oferece os lucros rápidos a firmas comerciais como os defensivos agrícolas podem propiciar (BAKER & COOK, 1974; COOK & BAKER, 1983; COOK, 1985; ELAD, 1990).

Um grande impasse no controle biológico reside no fato de que este é baseado nas propriedades antagonistas do organismo usado, envolvendo com isso a habilidade deste sobreviver no habitat onde é aplicado, e portanto ser mais competidor do que aqueles já existentes na microflora. Outro ponto diz respeito aos resultados obtidos que não são imediatos, quando comparados com os obtidos com fungicidas,

ocorrendo contudo casos em que os produtos químicos foram ineficientes, principalmente quando surgem mutantes resistentes, como exemplo o *Botrytis cinerea* que desenvolveu resistência aos fungicidas pertencentes ao grupo químico dos benzimida - zóis e dicarboximidas (ELAD, 1990).

COOK & BAKER (1983) definem controle biológico como a redução do inóculo ou das atividades do patógeno causador da doença, realizada por um ou mais antagonistas, excluíndo o homem. Por outro lado, incluindo o homem dentro da definição de controle biológico teria que aceitar como controle biológico a produção de cultura de meristema livre de vírus , erradicação de plantas doentes, práticas culturais em geral ou até mesmo aplicação de fungicidas sobre as plantas (COOK , 1985). O uso de plantas hospedeiras resistentes é encarado por COOK (1985) como sendo um dos melhores e mais efetivos méto-dos de controle biológico, considerando também que este tipo de controle pode ser acompanhado pela manipulação genética do hospedeiro, antagonista ou patógeno. As estratégias para o uso de antagonistas podem ser visualizadas em três aspectos : controle biológico do inóculo do patógeno; proteção biológica da superfície da planta; e controle biológico através da indução de resistência ou proteção cruzada, sendo esta uma sequência lógica do controle biológico.

Embora numerosas aplicações de controle biológico de patógenos de plantas tenham sido realizadas, muitos dos mecanismos envolvidos não estão ainda bem esclarecidos até o momento. Esse tipo de controle, mesmo tendo surgido há muitos anos atrás, visto que o termo controle biológico foi usado em relação aos patógenos de plantas no ano de 1914, por C. F. Von Tubenf, só tomou um grande impulso nos últimos 20 anos (BAKER, 1987).

MORSHED (1985), testando diferentes espécies de *Trichoderma* (*T. viride*, *T. glaucum*, *T. album*), contra fungos de sementes de feijão "in vitro", observou que dentre estas es

pêcies *T. viride* agiu sobre *C. lindemuthianum* através da invasão do patógeno pelo antagonista.

Muitos são os organismos antagônicos usados dentro do controle biológico, destacando-se entre eles a bactéria *Bacillus subtilis*, que controla inúmeros agentes causais de doenças de plantas como *Alternaria solani* em cenoura (VASUDEVA & CHAKRAVARTHI, 1954), *Erwinia amylovora* em maçã e pera (ALBO-EL-DAHAB & EL-GOORANI, 1964), *Uromyces phaseoli* em feijão (STAVELY *et al.*, 1981; BAKER *et al.*, 1983), *Phomopsis* sp. em soja (CUBETA *et al.*, 1985), *Pyricularia oryzae* em arroz (BETTIOL, 1988), *Botrytis cinerea* em morango (BETTIOL *et al.*, 1989), sendo os melhores resultados obtidos "in vitro" quando comparados com os "in vivo".

O controle biológico já é uma realidade dentro dos métodos alternativos de controle de doenças de plantas, necessitando todavia de maiores estudos com relação ao conjunto composto pelo hospedeiro-patógeno-antagonista, para que este passe a um plano ativo dentro desses métodos num futuro não muito distante, tornando-se uma solução a curto prazo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos experimentais foram desenvolvidos nas dependências dos laboratórios de Fitopatologia e Patologia de Sementes, bem como o campo experimental pertencentes ao Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", ESALQ/USP, Piracicaba, Estado de São Paulo, no período compreendido entre maio de 1989 e novembro de 1990. Os estudos envolveram as seguintes etapas:

3.1. TRANSMISSIBILIDADE DE *C. lindemuthianum* ATRAVÉS DE SEMENTES DE FEIJÃO OBTIDAS DE PLANTAS INOCULADAS ARTIFICIALMENTE

3.1.1. Em condições de campo

3.1.1.1. Obtenção e multiplicação do patógeno

O patógeno foi obtido de plantas de feijão, *P. vulgaris*, as quais mostravam sintomas da antracnose e sinais típicos do patógeno. As folhas destas plantas sofreram desinfecção superficial, que consistiu da passagem de fragmentos retirados da área de transição (parte sadia e parte doente) em álcool a 50%, em seguida através de uma solução de hipoclorito de sódio, preparada na proporção de três partes de água destilada para uma parte do desinfectante, contendo este 2% de cloro ativo, durante o tempo de 1-2 minutos. Decorrido este período, os fragmentos foram imersos por duas vezes em água destilada esteriliza

da, em seguida distribuídos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo o meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e incubados sob temperatura ambiente.

Após quatro dias, com os fragmentos exibindo crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, discos desse micélio medindo 4 mm de diâmetro foram retirados e colocados em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA e incubados em Biotronete a temperatura de 18-21°C, durante 7-10 dias. Após este período, preparou-se uma suspensão de conídios através da adição de 10 ml de água destilada esterilizada em cada uma delas. Para facilitar a liberação dos conídios, empregou-se um pincel de cerdas macias, removendo-se a superfície da colônia. Posteriormente colocou-se 0,5 ml desta suspensão de conídios em placas de Petri marca Pyrex, diâmetro de 9 cm, contendo o meio de cultura Aveia-Ágar, espalhando-se sobre a superfície do meio com o auxílio de uma alça de Drigalski. A incubação foi feita em Biotronete por sete dias, a temperatura de 18-21°C e luz contínua, para induzir a esporulação do patógeno.

3.1.1.2. Variedades de feijão utilizadas e semeadura

As variedades foram obtidas na Estação Experimental do Município de Capão Bonito, Estado de São Paulo, provenientes da coleção do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Foram empregadas as variedades comerciais Lustroso; Aeté-3; Carioca Pitoco; Paininha (Bainha Vermelha); Carioca Comum; Bico de Ouro (Bainha Preta) sabidamente suscetíveis a *C. lindemuthianum*, raça α . Esta, na nova nomenclatura das raças fisiológicas propostas para este patógeno, passou a ser considerada raça 65 (ITO, 1988).

As sementes das diferentes variedades foram semeadas no campo seguindo-se um delineamento estatístico de blocos ao acaso com parcelas sub-divididas, com seis tratamentos, re

presentados pelas variedades, dois sub-tratamentos, que consistiram de sub-parcelas inoculadas e não inoculadas, e seis repetições.

Por ocasião da semeadura realizou-se uma adubação nitrogenada com ureia, 4 g/m de sulco. Foram distribuídas aproximadamente 15 sementes por metro. Cada parcela com três metros de comprimento continha cinco linhas, espaçadas entre si 0,6 m. As sub-parcelas com 1,5 m, foram separadas entre si e entre blocos por 0,5 m.

3.1.1.3. Preparo do inóculo e inoculação das plantas

A suspensão de conídios foi obtida adicionando-se 20 ml de água destilada esterilizada às placas contendo o meio de Aveia-Ágar + fungo e fazendo-se a remoção das estruturas do patógeno com o auxílio de um pincel de cerdas macias. Em seguida, procedeu-se a filtração do material através de um tecido de nylon, a fim de eliminar resíduos do meio de cultura e fragmentos de micélio do fungo. A concentração da suspensão de conídios foi efetuada mediante o emprego de um hemacitômetro tipo Neubauer, ajustada para aproximadamente $1,2 \times 10^6$ conídios/ml. Para cada 1000 ml da suspensão, adicionou-se uma gota do espalhante adesivo Tween 80.

Quando as plantas exibiam as primeiras vagens, foram inoculadas por pulverização da suspensão do inóculo na parte aérea com o auxílio de um pulverizador manual com capacidade de quatro litros. As sub-parcelas testemunhas foram pulverizadas com água destilada.

3.1.1.4. Avaliação do experimento

Quando as plantas apresentavam o estágio de folhas e vagens secas, as três linhas centrais de cada sub-parcela foram

ram colhidas, etiquetadas e postas para secagem final em casa-de-vegetação. Decorrido o tempo necessário à secagem final, estas foram batidas, peneiradas e as sementes foram pesadas e acondicionadas em sacos de papel com capacidade de 2Kg e guardadas em câmara fria. Quatrocentas sementes de cada sub-parcelas foram destinadas ao método do papel de filtro, para observações da presença ou ausência de *C. lindemuthianum* nas mesmas. O mesmo foi realizado através da catação manual, com sementes externamente sadias, oriundas do mesmo lote de sementes.

No método do papel de filtro utilizou-se um conjunto de placas de Petri plásticas com 9cm de diâmetro, contendo cada uma delas três discos de papel de filtro, previamente umedecidos com água destilada. Em cada placa foram distribuídas 10 sementes equidistantes entre si. As sementes foram incubadas, durante sete dias, em câmara com temperatura em torno de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e luz alternada (12 horas claro e 12 horas escuro), fornecida por duas lâmpadas GE de 40 watts fluorescentes, luz do dia, distantes 25 cm uma da outra e 40 cm das placas. Após o período de incubação efetuou-se, sob microscópio este-reoscópico, a identificação dos microrganismos presentes nas amostras, determinando-se a frequência percentual de *C. lindemuthianum* em relação aos demais.

Os dados foram submetidos a análise de variância sendo transformados em $\sqrt{x + 1}$ e as médias comparadas utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.1.2. Em condições de casa-de-vegetação

3.1.2.1. Variedades de feijão utilizadas e semeadura

Neste teste, as variedades utilizadas foram a Lustroso, Paininha e Bico de Ouro, representando respectivamente, alto índice e zero e zero índice de *C. lindemuthianum* pelas sementes, semeadas em solo autoclavado, contido em vasos de

alumínio, com capacidade de 1,5 litros, sendo deixadas três plantas de cada variedade por vaso.

3.1.2.2. Multiplicação, preparo do inóculo e inoculação

A multiplicação do inóculo foi obtida em vagens de feijão + ágar-água, contidas em tubos de ensaio e autoclavadas por 30 minutos, à 120°C e 1 atm de pressão, em seguida inclinados até o resfriamento. Em câmara de fluxo contínuo e com auxílio de uma alça de platina flambada, retiraram conídios de *C. lindemuthianum* de placas de Petri com o meio de cultura Mathur, Barnett e Lilly (MBL) (KIMATI, 1966), espalhando-se sobre as vagens, uma vez que estas condições são favoráveis a esporulação do fungo. O fungo foi incubado em Biotronete por um período de 10 dias.

Decorrido o período de incubação, a suspensão de conídios foi preparada adicionando-se 30 ml de água destilada esterilizada em cada tubo de ensaio, para facilitar a liberação dos mesmos. Com o auxílio da alça de platina flambada, efetuou-se a remoção dos conídios. A suspensão foi filtrada em seguida, através de um tecido de nylon. A concentração foi determinada e ajustada conforme item 3.1.1.3.

A inoculação foi efetuada em três estádios de desenvolvimento: 30, 45 e 60 dias após a semeadura, através da aspersão da parte aérea das plantas, com o auxílio de um atomizador plástico, capacidade de 500 ml e, em seguida, mantidas em câmara úmida, constituída por uma cobertura de plástico transparente, durante o período de 24 horas, a fim de facilitar a germinação dos conídios e penetração no tecido do hospedeiro. As plantas testemunhas receberam o mesmo tratamento, sendo o inóculo substituído por água destilada esterilizada.

3.1.2.3. Avaliação do experimento

A avaliação do experimento foi realizada quando as plantas apresentavam as vagens secas. As vagens foram colhidas e as sementes retiradas manualmente, colocadas em sacos de papel, capacidade de 2Kg, devidamente etiquetadas e mantidas em câmara fria. Duzentas sementes, oriundas de cada tratamento, foram submetidas ao "blotter test". A finalidade desta avaliação foi verificar a presença de *C. lindemuthianum* nas sementes. As condições do teste foram as mesmas descritas no item 3.1.1.4.

O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos, representados pelas épocas de inoculação, 30, 45 e 60 dias mais a testemunha, com três repetições. Como testemunha foram utilizadas plantas não inoculadas. A comparação das médias foi obtida pelo teste de Tukey com os dados transformados em $\sqrt{x + 1}$ ou $\sqrt{x}$ a nível de 5% de probabilidade.

3.2. TRANSMISSIBILIDADE DE *C. lindemuthianum* ATRAVÉS DE SEMENTES DE FEIJÃO INOCULADAS POR DIFERENTES MÉTODOS

Nesses métodos de inoculação artificial de *C. lindemuthianum* foram utilizadas sementes da variedade Lustroso, as quais sofreram uma assepsia superficial com hipoclorito de sódio a 1% durante três minutos, em seguida passadas através de uma porção de água destilada esterilizada, seguida de secagem em papel absorvente por alguns minutos (TANAKA, 1990).

3.2.1. Métodos de inoculação de *C. lindemuthianum* em sementes de feijão

3.2.1.1. Método de imersão rápida

A suspensão de conídios foi obtida conforme descri

ta no item 3.1.2.2., na concentração de $1,2 \times 10^6$ conídios/ml . As sementes foram imersas nessa suspensão durante 30 minutos , sob agitação contínua, empregando-se um agitador elétrico marca Marconi e, em seguida, postas para secar ao ar e à sombra , sobre papel absorvente por duas horas. Para cada 100 ml de suspensão foram utilizadas 100 sementes. Aquelas que representaram a testemunha, foram imersas em água destilada esterilizada.

3.2.1.2. Método de imersão lenta

A suspensão de conídios e a concentração foram obtidos da mesma forma citada no item 3.1.2.2. As sementes foram imersas nessa suspensão por um período de duas horas, sob agitação contínua e posteriormente, colocadas sobre papel absorvente para secagem por 16 horas. A testemunha foi tratada com água destilada esterilizada. Em cada 100 ml da suspensão trataram-se 100 sementes.

3.2.1.3. Método de contato

O inóculo de *C. lindemuthianum* nesse teste, foi obtido em placas de Petri tipo Pyrex, de 9 cm de diâmetro, com o fungo desenvolvido sobre o meio de cultura MBL, durante 12 dias em Biotronete a temperatura de 18-21°C. Após o crescimento do patógeno, cada placa de Petri recebeu 50 sementes, procedimento esse semelhante ao realizado por TANAKA *et al.* (1989), e estas foram agitadas manualmente para haver melhor contato entre as sementes e a colônia do fungo. A incubação durante 24 horas, foi realizada em condições de temperatura ambiente. Nas testemunhas, as sementes ficaram em contato com placas de Petri, contendo apenas o meio de cultura MBL. Decorrido o período de 24 horas, as sementes foram postas a secar sobre papel absorvente por 24 horas.

3.2.2. Avaliação dos métodos de inoculação

A avaliação dos métodos de inoculação das sementes com *C. lindemuthianum* foi efetuada através da análise de sanidade e da transmissibilidade às plântulas de feijão.

3.2.2.1. Análise da sanidade de sementes

A análise da sanidade das sementes inoculadas pelos diferentes métodos, foi realizada conforme descrita no item 3.1.1.4. Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com sete repetições de 20 sementes para cada tratamento.

A avaliação foi realizada sob microscópio estereoscópio. Os dados obtidos e calculados em porcentagem de sementes portadoras de *C. lindemuthianum* foram transformados em $\sqrt{x + 1}$ e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.2.2.2. Teste de transmissibilidade

As sementes oriundas de cada método de inoculação foram cultivadas em caixas plásticas de 45x30x11 cm, contendo solo autoclavado, para observação da transmissibilidade de *C. lindemuthianum* às plântulas.

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, com sete repetições de 20 sementes por caixa. A avaliação realizou-se 15 dias após a semeadura, considerando-se a porcentagem de plântulas emergidas com sintomas, plântulas emergidas sem sintomas, bem como sementes não germinadas. Os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 1}$ ou $\sqrt{x}$ e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3. EFEITO DE FUNGICIDAS NO CONTROLE DE *C. lindemuthianum* , "IN VITRO"

3.3.1. Obtenção do inóculo

Neste experimento o inóculo foi oriundo de sementes infectadas, obtidas no teste de transmissibilidade item 3.1. As sementes exibindo lesões típicas de *C. lindemuthianum*, foram submetidas, durante um período de cinco minutos a assépsia superficial com hipoclorito de sódio, preparado na mesma proporção conforme descrito no item 3.1.1.1. Três sementes foram colocadas por placa de Petri, 9 cm de diâmetro, contendo o meio de cultura BDA e incubadas em Biotronete. Posteriormente, quando do crescimento micelial do patógeno, discos de micélio de 4 mm de diâmetro foram transferidos para placas de Petri contendo o mesmo meio de cultura acima citado e, incubadas na Biotronete por 10 dias.

3.3.2. Fungicidas e métodos utilizados

Foram utilizados os seguintes fungicidas: propi^uneb (ANTRACOL), benomyl (BENLATE 500), triadimefon (BAYLETON BR), tiofanato metílico (CERCOBIN 500 FW), óxido cuproso (COBRE SANDOZ BR), mancozeb (DITHANE M-45), fentin hidroxide (MERTIN 400), captan (ORTHOCIDE), triforine (SAPROL BR), prochloraz (SPORTAK 45 EC), diniconazole (SUMI-EIGHT), thiabendazole (TECTO 450), e thiram (RHODIAURAM 70).

O método utilizado foi o da inibição do crescimento micelial do fungo pelos fungicidas incorporados ao meio de BDA, nas concentrações finais de 0, 1, 10 e 100 ppm dos princípios ativos. Os fungicidas benomyl, tiofanato metílico, fentin hidroxide e prochloraz foram testados também nas concentrações de 0,1 e 0,01 ppm dos princípios ativos, em uma segunda fase.

3.3.3. Avaliação do experimento

A avaliação do experimento foi realizada aos 15 dias de inoculação quando *C. lindemuthianum*, nas placas testemunhas, atingiu praticamente o diâmetro total das mesmas. A medição do crescimento micelial foi feita com o auxílio de uma régua milimetrada, tomando-se em mm o diâmetro da colônia, em dois sentidos opostos.

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com arranjo fatorial mais um tratamento adicional, representado pela testemunha, sendo os dados submetidos a comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.4. EFEITO DE *B. subtilis* NO CONTROLE DE *C. lindemuthianum*, "IN VITRO"

Foram testados 26 isolados de *B. subtilis* (AP 3, AP 12, AP 42, AP 48, AP 49, AP 51, AP 85, AP 91, AP 94, AP 105, AP 114, AP 115, AP 157, AP 165, AP 181, AP 183, AP 203, AP 323, AP 332, AP 339, AP 365, AP 366, AP 401, AP 420, AP 429, AP 471) fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Jaguariuna - São Paulo.

Cada um dos isolados antagônicos, foi pareado com o *C. lindemuthianum* em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo o meio de cultura BDA. Um disco de micélio, de 4 mm de diâmetro, obtido da extremidade de uma cultura de *C. lindemuthianum*, com 12 dias de idade, foi transferido para cada placa, sendo colocado a 7 cm da colônia bacteriana. Em seguida, foram mantidos sob condições ambientais de luz e temperatura.

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado com três repetições para cada tratamento. A testemunha constou dos organismos cultivados, individualmente, em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA.

A avaliação foi efetuada 15 dias após o pareamento, quando o fungo nas placas testemunhas atingiu praticamente o diâmetro das mesmas. A medição foi realizada com o auxílio de uma régua milimetrada, tomando-se o diâmetro da colônia de *C. lindemuthianum* em dois sentidos diametralmente opostos. Os resultados são apresentados em porcentagens de inibição (PI), determinada através da fórmula:

$$PI = \frac{\phi \text{ testemunha} - \phi \text{ tratamento}}{\phi \text{ testemunha}} \times 100 \quad e$$

a comparação das médias realizadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.5. COMPARAÇÃO ENTRE FUNGICIDAS E ISOLADOS DE *B. subtilis* NO CONTROLE DE *C. lindemuthianum*, "IN VIVO"

3.5.1. Fungicidas

Neste teste foram empregadas sementes de feijão inoculadas artificialmente de acordo com o método de contato. Os estudos foram desenvolvidos em condições de laboratório e de casa-de-vegetação para termos de comparação.

3.5.1.1. Em condições de laboratório

No estudo em laboratório, as sementes inoculadas pelo método de contato, foram tratadas com os fungicidas benomyl, tiofanato matílico, fentin hidróxido e prochloraz, na dosagem de 2 g de ingrediente ativo (i.a.)/Kg de sementes. Após sofrerem o tratamento, as mesmas foram plaqueadas e incubadas de acordo com o método do papel de filtro. A testemunha foi representada pelas sementes inoculadas e não tratadas.

O delineamento estatístico empregado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos, representados pelos fun

gicidas e testemunha e sete repetições, sendo 20 o número de sementes por repetição.

A avaliação foi feita sete dias após a incubação, através de observações, ao microscópio estereoscópio, das sementes que continham sinais de *C. lindemuthianum*. Os dados obtidos foram transformados em $\sqrt{x + 1}$ e submetidos a análise de variância, comparando-se as médias pelo teste F.

3.5.1.2. Em condições de casa-de-vegetação

Nesse estudo, as sementes foram tratadas como as utilizadas nas condições de laboratório. Após o tratamento, as mesmas foram distribuídas em caixas plásticas, medindo 45x30x11 cm, e contendo solo autoclavado, empregando-se 20 sementes por caixa.

O delineamento estatístico empregado foi inteiramente casualizado, com seis repetições por tratamento. A testemunha constou de sementes inoculadas e não tratadas. Os dados foram transformados para análise de variância em $\sqrt{x + 1}$ ou $\sqrt{x}$ e a comparação das médias realizada pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

A avaliação foi efetuada 15 dias após a semeadura, observando-se a porcentagem de plântulas sem sintomas, plântulas com sintomas e sementes não germinadas (sementes duras).

3.5.2. Isolados de *B. subtilis*

Esse experimento foi desenvolvido em condições de laboratório e casa-de-vegetação, com o uso dos isolados de *B. subtilis* AP 114 e AP 332. As suspensões dos antagonistas foram preparadas transferindo-os para 100 ml do meio Batata-Dextrose (BD), contido em frascos de Erlenmeyers de 250 ml, os quais foram mantidos em agitação constante, num agitador elétrico contínuo marca Tecnal, em condições ambientais. Após 10 dias, as se

mentes (280 sementes) pré-inoculadas com o *C. lindemuthianum* foram imersas nesta suspensão por um período de 10 minutos. Em seguida, a metade delas, foi plaqueada e incubada, conforme já descrito pelo método do papel de filtro. A outra metade foi semeada em caixas plásticas contendo solo autoclavado seguindo-se a mesma metodologia da casa-de-vegetação. A testemunha consistiu de sementes inoculadas com *C. lindemuthianum* e não tratadas com os isolados de *B. subtilis*.

O delineamento estatístico tanto em laboratório como casa-de-vegetação foi o inteiramente casualizado, com seis repetições por tratamento. As avaliações foram efetuadas conforme descrito para o tratamento com fungicidas.

4. RESULTADOS

4.1. TRANSMISSIBILIDADE DE *C. lindemuthianum* ATRAVÉS DE SEMENTES DE FEIJÃO OBTIDAS DE PLANTAS INOCULADAS ARTIFICIALMENTE

4.1.1. Em condições de campo

4.1.1.1. Peso das sementes

A análise de variância para o efeito da inoculação sobre o peso das sementes de feijão, revelou diferença significativa entre as variedades empregadas no presente estudo.

As médias do peso das sementes, em gramas, das diferentes variedades são apresentadas na Tabela 1.

A comparação das médias pelo teste de Tukey , revelou maior peso das sementes para as variedades Paininha e Bico de Ouro, tanto nas parcelas inoculadas como nas não inoculadas. As sementes das variedades Lustroso e Carioca Pito-co obtidas das plantas inoculadas mostraram menor peso, em relação aquelas obtidas de plantas não inoculadas com *C. lindemuthianum*, embora não tenha havido diferença significativa

4.1.1.2. Análise de sanidade de sementes

As médias expressas em porcentagens dos fungos *C. lindemuthianum*, *Alternaria* spp., *Fusarium* sp. e *Nematospora* sp., dentro dos diferentes tratamentos e variedades

Tabela 1. Produtividade de sementes oriundas das variedades de feijão, inoculadas e não inoculadas com *C. lindemuthianum*, em condições de campo

Variedade	Peso das sementes em g ^{1/}	
	Inoculadas	Não Inoculadas
Lustroso	99,45 a	114,03 a
Aetê-3	156,16 a	149,46 a
Carioca Pitoco	99,99 a	123,38 a
Paininha (Bainha Vermelha)	263,28 b	279,11 b
Carioca Comum	155,74 a	155,89 a
Bico de Ouro (Bainha Preta)	300,48 b	268,15 b

^{1/} Médias originadas de seis repetições; médias seguidas da mesma letra, no sentido vertical, não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

são apresentadas na Tabela 2.

A análise de variância dos dados obtidos para *C. lindemuthianum*, revelou efeito significativo entre as variedades, o mesmo não acontecendo entre tratamentos e a interação variedade e tratamento. De acordo com o teste de Tukey pode-se observar pela Tabela 2, que as sementes das variedades Lustroso, Aeté-3 e Carioca Pitoco apresentaram maior porcentagem de *C. lindemuthianum*. Entretanto, não foi registrada nenhuma incidência deste patógeno sobre as sementes de Paininha e Bico de Ouro. É interessante ressaltar que as sementes oriundas das variedades não inoculadas, com exceção de Paininha e Bico de Ouro, comportaram-se como mais sujeitas a incidência de *C. lindemuthianum*.

Para o fungo *Alternaria* spp., a análise de variância indicou diferença significativa entre as variedades, não havendo diferença significativa entre tratamentos e a interação variedade e tratamento. A comparação das médias pelo teste de Tukey revelou maior incidência deste fungo nas sementes da variedade Lustroso, não diferindo entretanto da Bico de Ouro.

Com relação a *Fusarium* sp., cuja ocorrência foi muito pequena, a análise de variância não revelou diferença significativa entre variedades, tratamentos e interação variedade e tratamento. O teste de Tukey não mostrou diferença significativa entre as variedades Lustroso, Aeté-3, Carioca Pitoco e Carioca Comum, tanto para as inoculadas como as não inoculadas. Nas sementes obtidas das variedades Paininha e Bico de Ouro, não se observou a presença deste fungo.

Embora *Nematospora* sp. tenha ocorrido em pequeno número, a análise de variância dos dados mostrou efeito significativo entre as variedades, o mesmo sendo observado entre tratamentos e a interação variedade e tratamento. O teste de Tukey revelou diferença entre a incidência deste pa

Tabela 2. Incidência de fungos em sementes de feijão oriundas de plantas inoculadas e não inoculadas com *C. lindemuthianum*

Variedade	% de sementes com							
	<i>C. lindemuthianum</i>		<i>Alternaria</i> spp.		<i>Fusarium</i> sp.		<i>Nematospora</i> sp.	
	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI
Lustroso	4,2 a ^{1/}	6,0 a	7,5 a	8,3 a	1,3 a	0,7 a	0,7 b	0,0 b
Aeté-3	4,3 ab	4,8 ab	1,8 cd	1,8 cd	0,2 ab	0,3 ab	0,2 b	0,7 b
Carioca Pitoco	2,3 b	3,5 b	0,3 d	1,3 d	0,3 ab	0,3 ab	1,2 b	0,0 b
Paininha (Bainha Vermelha)	0,0 c	0,0 c	4,0 bc	2,5 bc	0,0 b	0,0 b	3,5 a	3,5 a
Carioca Comum	3,7 ab	3,7 ab	1,2 d	0,5 d	0,2 ab	0,5 ab	0,5 b	0,2 b
Bico de Ouro (Bainha Preta)	0,0 c	0,0 c	5,5 ab	4,5 ab	0,0 b	0,0 b	3,3 a	4,0 a

^{1/} Médias seguidas de mesma letra, no sentido vertical, não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey dos dados transformados.

I = Inoculada; NI = Não Inoculada

tôgeno sobre as sementes das variedades Paininha e Bico de Ouro em relação as demais.

As médias expressas em porcentagens dos fungos dentro das diferentes variedades e tratamentos, são apresentadas na Tabela 3.

No tocante a *C. lindemuthianum* segundo a análise de variância não houve diferença significativa entre as variedades, tratamentos e interação variedade e tratamento. Quanto ao fungo *Alternaria* spp. ocorreu diferença significativa entre variedades e tratamentos, porém não houve diferença na interação variedade e tratamento. Com relação a *Phoma* sp. houve diferença significativa entre as variedades testadas, não verificando-se diferença entre tratamentos e interação variedade e tratamento.

Pelo teste de Tukey não ocorreu diferença significativa entre as variedades no tocante a *C. lindemuthianum*, já para os fungos *Alternaria* spp. e *Phoma* sp. essa diferença se verificou, sendo a variedade Lustroso a que mostrou maior incidência destes dois últimos patógenos.

4.1.2. Em condições de casa-de-vegetação

As médias apresentadas em porcentagens da incidência deste patógeno nas sementes, para os diferentes tratamentos são apresentadas na Tabela 4.

De acordo com a análise de variância no que se refere aos dados das épocas de inoculação de 60, 45 e 30 dias, foi significativo as diferenças entre os tratamentos.

A variedade Lustroso mostrou certa incidência de *C. lindemuthianum*, com maior destaque quando inoculadas aos 45 dias após a semeadura, enquanto que nas variedades Paininha e Bico de Ouro não houve incidência do fungo.

Tabela 3. Incidência de fungos em sementes de feijão sem sintomas externos, oriundas de plantas inoculadas e não inoculadas com *C. lindemuthianum*

Variedade	% de sementes com					
	<i>C. lindemuthianum</i>		<i>Alternaria</i> spp.		<i>Phoma</i> sp.	
	I	NI	I	NI	I	NI
Lustroso	0,83 a ^{1/}	0,70 a	9,00 a	4,33 a	2,00 a	1,00 a
Aeté-3	0,50 a	0,33 a	1,00 b	0,50 b	0,50 b	0,33 b
Carioca Pitoco	0,33 a	0,00 a	2,00 b	1,17 b	0,00 b	0,33 b
Carioca Comum	0,33 a	0,17 a	1,17 b	0,50 b	0,67 b	0,00 b

^{1/} Médias seguidas de mesma letra, no sentido vertical, não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey dos dados transformados.

I = Inoculada; NI = Não Inoculada

Tabela 4. Incidência de *C. lindemuthianum* em sementes de três variedades de feijão, inoculadas após a semeadura, em três estádios distintos de desenvolvimento, em condições de casa-de-vegetação

Variedade	Épocas de Inoculação ^{1/}			Média de Variedade
	60 dias	45 dias	30 dias	
Lustroso	1,50	4,00	1,67	2,39 a
Paininha (Bainha Vermelha)	0,00	0,00	0,00	0,00 b
Bico de Ouro (Bainha Preta)	0,00	0,00	0,00	0,00 b
Média de época	0,50 a	1,33 a	0,56 a	

^{1/} Médias em porcentagem oriundas de três repetições; médias seguidas de mesma letra no sentido vertical e horizontal, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey dos dados transformados.

4.2. TRANSMISSIBILIDADE DE *C. lindemuthianum* ATRAVÉS DE SE- MENTES DE FEIJÃO INOCULADAS POR DIFERENTES MÉTODOS

4.2.1. Avaliação dos métodos pela análise de sanidade de sementes

As médias das porcentagens de sementes com *C. lindemuthianum*, encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Incidência de *C. lindemuthianum* em sementes da variedade Lustroso, após inoculação com este patógeno, através de três métodos

Método	Médias (%) ^{1/}
Contato	64,29 a
Imersão Lenta	11,43 b
Imersão Rápida	2,14 c
Testemunha	0,00 c

^{1/} Médias de sete repetições; médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey dos dados transformados.

Segundo a análise de variância, foram significativas as diferenças entre os métodos testados e através da comparação das médias pelo teste de Tukey destacou-se o método de contato na obtenção de sementes infectadas pelo patógeno, sendo o método de imersão rápida, o menos eficiente.

4.2.2. Avaliação dos métodos pelo teste de transmissibilidade em casa-de-vegetação

Na Tabela 6, encontram-se as médias em porcentagens, obtidas de plântulas sem sintomas, plântulas com sintomas e sementes não germinadas, após inoculação artificial das sementes, através de três métodos.

Tabela 6. Plântulas de feijoeiro com sintomas, sem sintomas e sementes não germinadas da variedade Lustroso, após inoculação de sementes com *C. lindemuthianum*, através de três métodos

Método	Plântulas sem sintomas (%)	Plântulas com sintomas (%)	Sementes não germinadas (%)
Contato	85,03 a ^{1/}	5,71 a	9,26 a
Imersão Lenta	60,00 b	2,86 ab	37,14 b
Imersão Rápida	86,05 a	1,43 b	12,52 a
Testemunha	95,00 a	0,00 b	5,00 c

^{1/} Médias de sete repetições; médias seguidas por mesma letra, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey dos dados transformados.

De acordo com a análise de variância ocorreu diferença significativa para as plântulas sem sintomas, com sintomas e as sementes não germinadas, entre os diferentes tratamentos.

Comparando-se as médias das porcentagens pelo

teste de Tukey, verifica-se que não houve diferença entre os métodos de contato e imersão rápida, no tocante às plântulas sem sintomas e sementes não germinadas, enquanto que para obtenção de plântulas com sintomas o melhor método de inoculação foi o de contato, não diferindo entretanto do método de imersão lenta.

4.3. EFEITO DE FUNGICIDAS NO CONTROLE DE *C. lindemuthianum*, "IN VITRO"

A análise de variância dos dados revelou efeito significativo dos fungicidas, concentrações e da interação fungicidas e concentrações.

As médias da inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum* pelos diferentes fungicidas são expressas na Tabela 7.

A comparação das médias pelo teste de Tukey, mostrou efeito significativo dos produtos químicos e das concentrações. Os fungicidas que melhor atuaram na inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum* foram o benomyl e prochloraz, porém não diferiram do propineb, tiofanato metílico, fentin hidróxido, diniconazole, thiabendazole a 10 e 100 ppm e do triadimefon e thiram a 100 ppm.

A Figura 1 dá uma idéia do efeito dos diferentes fungicidas na inibição de *C. lindemuthianum* dentro das diferentes concentrações.

As médias obtidas dentro dos diferentes fungicidas e concentrações referentes a segunda fase dos ensaios, são mostradas na Tabela 8.

A análise de variância revelou diferença significativa entre os fungicidas, concentrações e interação fungicidas e concentrações. Na concentração de 0,01 ppm, não houve diferença entre os fungicidas, tendo *C. lindemuthianum* apre -

Tabela 7. Efeito de fungicidas na inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, "in vitro"

Fungicida	Diâmetro médio (mm) ^{1/} da colônia nas concentrações de		
	1 ppm	10 ppm	100 ppm
benomyl	0,00 a	0,00 a	0,00 a
prochloraz	0,00 a	0,00 a	0,00 a
tiofanato metílico	21,12 b	0,00 a	0,00 a
fentin hidroxide	26,37 b	0,00 a	0,00 a
diniconazole	49,50 c	0,00 a	0,00 a
thiram	50,62 cd	34,25 b	0,00 a
propineb	58,87 de	0,00 a	0,00 a
captan	59,12 de	57,50 cd	30,00 bc
óxido cuproso	61,75 ef	59,87 cd	57,75 d
mancozeb	63,50 ef	52,50 c	35,50 c
thiabendazole	68,75 g	0,00 a	0,00 a
triadimefon	70,00 g	63,25 d	0,00 a
triforine	80,00 h	80,00 e	24,37 b
Testemunha	72,50 g	72,50 d	72,50 e

^{1/} Médias de quatro repetições; médias seguidas de mesma letra, no sentido vertical, não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Figura 1. Efeito dos diferentes fungicidas na inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, em três concentrações: 1(a); 10(b) e 100(c) ppm

Tabela 8. Inibição "in vitro" do crescimento micelial de *C. lindemuthianum* por quatro fungicidas

Fungicida	Diâmetro médio(mm) ^{1/} da colônia nas concentrações de		
	0,01 ppm	0,1 ppm	1 ppm
benomyl	67,50 a	37,00 a	0,00 a
prochloraz	67,25 a	34,37 a	0,00 a
tiofanato metílico	71,37 a	68,37 b	34,50 b
fentin hidroxide	70,87 a	69,12 b	33,50 b
Testemunha	77,12 a	77,12 b	77,12 c

^{1/} Médias de quatro repetições; médias seguidas de mesma letra , no sentido vertical, não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

sentado crescimento micelial dentro das concentrações de 0,1 e 1 ppm. O benomyl e o prochloraz comportaram-se como os melhores na inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, comparados aos outros dois fungicidas testados.

Através da Figura 2, observa-se de forma comparativa o efeito dos fungicidas empregados nas concentrações utilizadas.

4.4. EFEITO DE ISOLADOS DE *B. subtilis* NO CONTROLE DE *C. lindemuthianum*, "IN VITRO"

As médias expressas em porcentagens de inibi - ção de *C. lindemuthianum* são apresentadas na Tabela 9.

De acordo com a análise de variância dos dados obtidos, observa-se um efeito significativo dos diferentes isolados de *B. subtilis* testados. Os isolados AP 114 e AP 332, visualmente, destacaram-se entre os demais, se bem que estes não diferiram dos isolados AP 183, AP 420, AP 471, AP 323, AP 157, AP 105, AP 115, AP 3, AP 48, AP 401, AP 203, AP 91, AP 181, AP 165, AP 12, mas foram significativamente superiores quando comparados com AP 365, AP 429, AP 366, AP 85, AP 49 , AP 51, AP 94, AP 42 e AP 339.

A Figura 3 mostra de forma comparativa os re-sultados obtidos em relação ao comportamento dos **diferentes** isolados de *B. subtilis* na inibição de *C. lindemuthianum*.

4.5. COMPARAÇÃO ENTRE FUNGICIDAS E ISOLADOS DE *B. subtilis* NO CONTROLE DE *C. lindemuthianum*, "IN VIVO"

4.5.1. Em condições de laboratório

As médias das porcentagens para o efeito dos

Figura 2. Efeito de quatro fungicidas utilizados na inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, em três concentrações (0,01(a); 0,1(b) e 1(c) ppm)

Tabela 9. Inibição de *C. lindemuthianum*, em BDA, por 26 isolados de *B. subtilis*

Isolado	% de controle de crescimento ^{1/}
AP 114	28,53 a
AP 332	27,73 ab
AP 183	23,73 abc
AP 420	22,13 abc
AP 471	21,60 abc
AP 323	21,33 abc
AP 157	21,07 abc
AP 105	21,07 abc
AP 115	19,73 abc
AP 3	19,47 abc
AP 48	18,93 abc
AP 401	18,67 abc
AP 203	18,13 abc
AP 91	17,33 abc
AP 181	16,80 abc
AP 165	16,27 abc
AP 12	14,40 bc
AP 339	14,13 c
AP 42	13,33 c
AP 365	11,73 c
AP 429	11,47 c
AP 366	11,20 c
AP 85	11,20 c
AP 49	10,93 c
AP 51	10,93 c
AP 94	10,40 c

^{1/} Em relação à testemunha; média de três repetições; médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Figura 3. Comportamento dos isolados de *B. subtilis* em relação a redução do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*

fungicidas em sementes inoculadas com *C. lindemuthianum* e tratadas com diferentes produtos químicos e isolados de *B. subtilis* são mostradas na Tabela 10.

A análise de variância revelou diferença estatística entre testemunha e sementes tratadas, indicando com isso que o ideal é o tratamento das sementes, o mesmo não sendo verificado entre isolados e fungicidas, entre isolados e entre fungicidas, através do teste F ao nível de 5% de probabilidade.

4.5.2. Em condições de casa-de-vegetação

As médias de plântulas sem sintomas, plântulas com sintomas e sementes não germinadas são apresentadas na Tabela 11.

Através da análise de variância observou-se diferença entre tratamentos para plântulas com sintomas, o mesmo não sendo verificado no caso das plântulas sem sintomas e sementes não germinadas.

Pelo teste de Duncan para os três parâmetros avaliados, observa-se pela Tabela 11, que no caso das plântulas com sintomas, os melhores tratamentos foram os realizados com fungicidas, embora estes não tenham diferido dos isolados e testemunha. Houve diferença significativa entre tratamentos para os parâmetros plântulas sem sintomas e sementes não germinadas seguindo o mesmo teste de comparação de médias. O tiofanato metílico ofereceu maior porcentagem de plântulas sem sintomas, seguido do benomyl, fentin hidróxido e dos isolados AP 114 e AP 332.

A Figura 4 apresenta de forma comparativa, os resultados obtidos nos diferentes tratamentos para os parâmetros avaliados, ou seja, plântulas sem sintomas, plântulas com sintomas e sementes não germinadas.

Tabela 10. Incidência de *C. lindemuthianum* em sementes da variedade Lustroso, inoculadas com este patógeno e tratadas com quatro fungicidas e dois isolados de *B. subtilis*

Contraste	Média (%) ^{1/}	F
Testemunha x Tratadas		
Testemunha	62,50 a	4,26*
Tratadas	10,70 b	
Isolados x Fungicidas		
Fungicidas	3,75 a	2,04 ^{ns}
Isolados	24,58 a	
Isolado AP 332xIsolado AP 114		
Isolado AP 332	24,17 a	0,0008 ^{ns}
Isolado AP 114	25,00 a	
Entre Fungicidas		
fentin hidroxide	5,00 a	0,006 ^{ns}
tiofanato metílico	4,17 a	
benomyl	3,33 a	
prochloraz	2,50 a	

^{1/}Médias originadas de seis repetições; médias seguidas de mesma letra, no sentido vertical, não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F dos dados transformados.

Tabela 11. Plântulas com sintomas, sem sintomas e sementes não germinadas da variedade Lustroso, inoculadas com *C. lindemuthianum* e tratadas com quatro fungicidas e dois isolados de *B. subtilis*

Tratamento	Plântulas com sintomas (%)	Plântulas sem sintomas (%)	Sementes não germinadas (%)
AP 332	1,67 a ^{1/}	85,00 ab	13,33 ab
AP 114	2,50 a	84,17 ab	13,33 ab
benomyl	0,00 a	91,67 ab	6,67 ab
prochloraz	0,00 a	75,83 b	24,17 a
tiofanato metílico	0,00 a	94,17 a	5,83 b
fentin hidroxide	0,83 a	91,67 ab	7,50 ab
Testemunha	3,33 a	82,50 b	14,17 ab

^{1/} Médias originadas de seis repetições; médias seguidas de mesma letra, no sentido vertical, não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan dos dados transformados.

Figura 4. Efeito de fungicidas e isolados de *B. subtilis* sobre as plântulas sem sintomas(a); plântulas com sintomas(b); e sementes não germinadas(c), causados por *C. lindemuthianum*

5, DISCUSSÃO

As perdas causadas pelas doenças à cultura do feijão, dependem em grande parte da variedade utilizada, tornando-se de vital importância a escolha daquelas que melhor se adaptam à cada região, empregando-se sementes com boa qualidade sanitária, o que reduzirá a incidência de diversos microrganismos transportados e transmitidos através delas. No caso específico da antracnose, esta pode ser controlada, a níveis satisfatórios, usando-se sementes sadias, o que já foi comprovado por alguns pesquisadores (TU, 1982; DHINGRA *et al.*, 1986; MENEZES, 1986; MACHADO, 1988), pois como mostrado por BAKER (1979) uma única semente pode conter milhões de esporos, suficientes para gerar uma epidemia, dependendo no entanto das condições climáticas reinantes na região.

Das variedades utilizadas na presente pesquisa verificou-se que Paininha e Bico de Ouro comportaram-se como resistentes à incidência de *C. lindemuthianum* nas sementes, tanto em condições de campo como em condições de casa-de-vegetação, demonstrando maior peso das sementes tanto nas parcelas inoculadas como nas não inoculadas. O mesmo resultado foi obtido por ITO, M.F. (Comunicação Pessoal) em condições de campo, podendo estas serem empregadas em programas futuros de melhoramento visando a obtenção de variedades com bom nível de resistência à antracnose. As demais variedades apresentaram-se com pouca diferença no tocante ao peso das sementes, tanto nas inoculadas como não inoculadas. No campo, muitas das plantas pertencentes a estas variedades (Lustroso, Aetê-3, Carioca Pitoco e Carioca Comum) não conseguiram chegar ao final do ciclo, sendo um dos pontos que justifi

ca a pequena produção conseguida. Por ocasião da execução deste experimento, a temperatura encontrava-se baixa e a umidade relativa do ar alta sendo estas condições altamente favoráveis à doença como descrito por BARRUS (1921); VIEIRA (1967); ECHANDI (1976); CHAVES (1980), entre outros.

Através da análise de sanidade das sementes, pode-se verificar, conforme mostrado na Tabela 2, que Lustroso foi a variedade de maior incidência de *C. lindemuthianum* nos dois tratamentos efetuados, atribuindo-se a este fato, a obtenção de menor peso das sementes nesta variedade, segundo ITO *et al.* (1986) a produção é afetada por este fungo, além de outros como, *Alternaria* spp. e *Fusarium* sp., os quais ocorreram numa proporção bem maior. No presente trabalho, além dos fungos constantes da Tabela 2, observou-se também a incidência de *Rhizoctonia solani* (Kuhn), *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid., *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp., em pequena porcentagem.

No que se refere as sementes aparentemente normais, ou seja, sem sintomas externos, oriundas de plantas inoculadas e não inoculadas os resultados obtidos mostraram a presença de *C. lindemuthianum* nas sementes das quatro variedades empregadas, embora em pequena porcentagem, atingindo até 0% de incidência, em Carioca Pitoco. Além do fitopatógeno citado, também foram detectados fungos dos gêneros *Alternaria* e *Phoma* os quais encontraram-se presentes em todas as variedades dentro dos tratamentos, porém em baixa porcentagem. Com relação as sementes sem o processo de catação manual, o fungo *Phoma* sp. não tinha sido registrado na análise de sanidade das sementes realizado anteriormente. Trabalho semelhante foi desenvolvido por MENEZES & MOHAN (1982) onde realizaram a catação manual, separando as sementes em três grupos: sementes aparentemente normais; sementes com manchas típicas de antracnose; e sementes com outros tipos de manchas, enrugadas, mal formadas e danificadas. Mostraram os autores que *C. lindemuthianum* de 7,3% na amostra original, diminuiu para 1% na amostra de sementes selecionadas. A seleção visual quando possível apresenta-se como uma so

lução eficiente, cujo objetivo primordial seria melhorar a qualidade sanitária num lote de sementes de feijão, reduzindo com isso o inóculo inicial, o qual depende além das sementes, das condições climáticas da área de cultivo, variedade e outros fatores ligados a planta.

No tocante ao teste de transmissibilidade em casa-de-vegetação, em três épocas distintas de inoculação empregando-se as variedades Lustroso, Paininha e Bico de Ouro, verificou-se que somente a primeira apresentou *C. lindemuthianum* em suas sementes, principalmente quando a inoculação foi efetuada aos 45 dias após o plantio (Tabela 4). Neste ponto as vagens estavam iniciando seu desenvolvimento, e provavelmente por esse motivo, aliado a certa suscetibilidade da variedade Lustroso, tenha ocorrido o transporte do patógeno da planta às sementes em formação. No caso da inoculação das plantas aos 60 dias, as vagens, na sua maioria, encontravam-se formadas havendo pouco transporte de *C. lindemuthianum* para as sementes, e aos 30 dias muitas das plantas não chegaram ao final do ciclo, o que coincide com alguns trabalhos (VIEIRA, 1967; CHAVES, 1980; KIMATI, 1980; KULIK, 1984, entre outros) que têm demonstrado que esta enfermidade é mais drástica para as plantas de feijão quando o patógeno afeta as mesmas nos primeiros estádios de desenvolvimento. O estágio de desenvolvimento da planta, em termos de dinâmica de transmissão de patógeno para as sementes, no tocante à época de maior infecção da planta, é um aspecto muito importante na inspeção sanitária de um campo de cultivo. Quando bem conhecido, permite determinar a época em que a incidência da doença nas plantas for alta, fazendo com que os riscos de contaminação ou infecção das sementes sejam maiores (MACHADO, 1988). Este meio de conhecimento faz com que se possa entrar com métodos de controle, evitando-se a passagem do patógeno para as sementes. As variedades Paininha e Bico de Ouro comportaram-se da mesma maneira que no campo, onde a incidência de *C. lindemuthianum* sobre as sementes foi nula, sugerindo bom nível de resistência ao patógeno em questão.

Os microrganismos podem estar associados às sementes de diversas maneiras, sendo influenciados por inúmeros fatores dos quais a própria natureza dos patógenos e das sementes estão envolvidas. A maneira mais comum de associação destes com as sementes e o transporte mais eficiente é quando estes encontram-se localizados nas camadas mais internas, e segundo MACHADO (1988) as chances de transmissão são tanto maiores quanto mais internamente o patógeno alojar-se nas sementes. No presente estudo, os métodos de inoculação das sementes por contato, imersão lenta e imersão rápida em geral, resultaram em plântulas com sintomas de antracnose, destacando-se o método de contato como o mais eficiente na transmissão do patógeno.

A inoculação com os métodos de imersão lenta e imersão rápida apresenta como vantagem, em relação ao de contato, a possibilidade da utilização de concentração de conídios conhecida, além de menor período de exposição ao patógeno, pois neste último não é possível ajustar concentração e o tempo de contato das sementes com a colônia do fungo é bem superior aos demais (24 horas de contato com a colônia do fungo e 24 horas de secagem ao ar e à sombra). Porém nestes dois primeiros métodos o fungo encontra-se aderido mais externamente às sementes, uma vez que o tempo de exposição com a suspensão de conídios do fungo é pequeno, não dando tempo de ocorrer uma associação mais interna com os tecidos da semente.

Segundo comenta TANAKA *et al.* (1989), como o inóculo, nos dois métodos de imersão fica aderido apenas à superfície das sementes, isso resulta em menor probabilidade de infecção da plântula via semente, podendo ainda ocorrer ressecamento dos conídios, devido à sua localização externa quando da secagem, mesmo que seja realizada ao ar e à sombra, isso porque as sementes foram molhadas na suspensão de conídios.

Embora o método de contato apresente como desvantagem a impossibilidade de se conhecer a concentração do inóculo, apresenta no entanto como vantagens sobre os outros dois mé

todos de inoculação, maior facilidade de execução e maior eficiência de infecção das sementes, conforme também já foi relatado por TANAKA (1990).

Com relação aos fungicidas testados na inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, os que ofereceram melhor controle foram benomyl e prochloraz, que já na concentração de 1 ppm o fungo não conseguiu crescer, seguido do tiofanato metílico e fentin hidróxido, pois nesta mesma concentração reduziram crescimento do fungo (Tabelas 5 e 6). Mesmo nas concentrações de 0,1 ppm, o benomyl e o prochloraz apresentaram resultados melhores que o tiofanato metílico e fentin hidróxido, sendo, por isso, utilizados posteriormente no tratamento das sementes.

A utilização de variedades resistentes à antracnose seria, sem sombra de dúvida, a solução mais econômica e viável para o cultivo do feijoeiro, auxiliando principalmente o pequeno agricultor, porém na falta destas, deve-se tentar a utilização de sementes sadias, mediante o cultivo em regiões isentas do patógeno ou através do uso de fungicidas no tratamento das sementes, oferecendo uma proteção adequada e completa às plantas.

O tratamento das sementes é um método de controle relativamente econômico, pois neste utiliza-se pequenas quantidades do produto controlando tanto o patógeno presente nas sementes, bem como no solo, é de manipulação mais fácil, evitando-se também o risco de poluição no meio ambiente, podendo também melhorar a germinação e emergência no campo.

No caso do benomyl, desde o seu surgimento por volta da década de 70, foi e continua sendo até os dias atuais, um dos fungicidas mais amplamente utilizado em várias culturas e patógenos diversos, devido às suas propriedades sistêmicas e grande eficiência. Porém, vários estudos têm mostrado o surgimento de mutantes resistentes (GRIFFEE, 1973; COOK & PEREIRA, 1976; TU & JARVIS, 1979 a,b; GHINI, 1987), sendo um fator primor

dial a pressão de seleção exercida pela aplicação inadequada do fungicida (KIMATI, 1987), por se manter ativo na planta por um período bem superior em relação aos não sistêmicos, tanto em aplicação foliar como nas sementes (SINDHAN & BOSE, 1981). Segundo ELLIS & GALVEZ (1980) o benomyl pode penetrar no tegumento e nos cotilédones das sementes de feijão, oferecendo controle de *C. lindemuthianum*. O mesmo foi verificado por ELLIS *et al.* (1976) onde o produto reduziu parcialmente a ocorrência do patógeno citado nas sementes. Na presente pesquisa, este produto foi eficiente, tanto na redução da incidência, como na transmissão semente-plântulas, onde o percentual foi praticamente zero. Entretanto, TU & McNAUGHTON (1980) relataram que embora o benomyl tenha sido efetivo no tratamento de sementes contra *C. lindemuthianum*, o seu uso prolongado pode resultar no aparecimento de mutantes resistentes, sugerindo o emprego do produto em baixas concentrações, para minimizar este problema.

No presente trabalho, em teste "in vitro", este fungicida foi eficiente a partir de 1 ppm, contrariando o resultado encontrado por BAUMGART & PORTO (1978) onde este só apresentou efeito inibidor de crescimento do fungo na concentração de 5 ppm.

O prochloraz, pertencente ao grupo químico Imidazole, relativamente novo no Brasil, tem ação inibidora sobre a biossíntese de ergosterol dos organismos eucarióticos, apresentando baixo risco de surgimento de mutantes resistentes, uma vez que muitas das reações não têm sido completamente elucidadas e a ordem precisa das mudanças que acontecem dentro do modelo geral de biossíntese do ergosterol pode variar nas diferentes espécies de fungos segundo SIEGEL (1981). Este fungicida comportou-se como eficiente no controle de *C. lindemuthianum* tanto "in vitro" já a partir da concentração de 1 ppm, como em casa-de-vegetação. Porém, neste último ponto, as plântulas oriundas de sementes tratadas mostraram-se raquíticas, com as folhas

deformadas e muitas não germinaram, indicando ser o produto fitotóxico às plantas de feijão. Em estudos preliminares, a aplicação do prochloraz em pulverização da parte aérea, resultou em paralização do crescimento das mesmas e as folhas novas ficaram deformadas em relação à testemunha não pulverizada. Torna-se interessante a realização de futuros trabalhos com este fungicida, envolvendo modificações na sua formulação, pois talvez seja este um dos motivos pelo qual o produto comportou-se muito bem em testes "in vitro" e não em testes "in vivo".

No que diz respeito ao efeito de *B. subtilis* sobre *C. lindemuthianum*, foi observado que, em geral, os isolados empregados mostraram certa capacidade biocontroladora, destacando-se AP 114 e AP 332 como os mais promissores por induzir maior inibição do crescimento micelial do patógeno referido, nos estudos "in vitro". Embora, nada tenha sido encontrado na literatura, com relação ao controle biológico de *C. lindemuthianum* através de *B. subtilis*, há no entanto relatos da eficiência deste antagonista sobre outros fungos e bactérias fitopatogênicos (VASUDEVA & CHAKRAVARTHI, 1954; ALBO-EL-DAHAB & EL-GOORANI, 1964; STAVELY *et al.*, 1981; BAKER *et al.*, 1983; CUBETA *et al.*, 1985; BETTIOL, 1988; BETTIOL *et al.*, 1989).

Segundo relata ELAD (1990) a maioria dos estudos com agentes biocontroladores descrevem apenas sua atuação em ambientes controlados, ou seja, à nível de laboratório, tendo sido mais desenvolvidos e explorados comercialmente inseticidas microbianos do que agentes biocontroladores de doenças de plantas.

6. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos neste trabalho de pesquisa, pode-se tirar as seguintes conclusões:

- Nas variedades Paininha (Bainha Vermelha) e Bico de Ouro (Bainha Preta), não ocorreu transmissão de *C. lindemuthianum*, raça α , da planta à semente.

- Sementes da cv. Lustroso inoculadas aos 45 dias apresentaram uma incidência superior de *C. lindemuthianum*.

- O melhor método de inoculação artificial na obtenção de sementes infectadas foi o de contato, com micélio de *C. lindemuthianum* por 24 horas.

- Dos fungicidas testados "in vitro" contra *C. lindemuthianum*, os melhores foram o benomyl e o prochloraz.

- Dos 26 isolados de *B. subtilis* utilizados, AP 114 e AP 332 foram os mais promissores no controle de *C. lindemuthianum*, "in vitro".

- O tiofanato metílico, seguido do benomyl e fentin hidroxide foram os melhores fungicidas na obtenção de plântulas sem sintomas de antracnose, quando utilizados no tratamento das sementes.

- O tratamento das sementes com *B. subtilis*, foram menos eficientes do que os melhores tratamentos químicos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABO-EL-DAHAB, M.K. & EL-GOORANI, M.A. Antagonistic effect of a *Bacillus subtilis* upon *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, St. Paul, 54:1285-6, 1964.
- ANDERSEN, A.L. Control of bean anthracnose in navy pea beans by seed treatment. *Phytopathology*, St. Paul, 42(1):1, 1952.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL - 1987, Rio de Janeiro, 49:321, 1989.
- ARAYA, C.; DHINGRA, O.; KUSHALAPA, A. Relation entre la incidencia de *Colletotrichum lindemuthianum* en el campo y transmision del patogeno por semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris*). *Phytopathology*, St. Paul, 75(10):1175, 1985.
- ARAYA, C.M.; DHINGRA, O.D.; KUSHALAPPA, A.C. Incidência de antracnose em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) sob diferentes pressões de inóculo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 11:795 - 801, 1986.
- ARAYA, C.M.; DHINGRA, O.D.; KUSHALAPPA, A.C. Influence of primary inoculum on bean anthracnose prevalence. *Seed Science and Technology*, Zurich, 15(1):45-54, 1987.
- BAKER, K.F. Seed pathology - concepts and methods of control. *Journal of Seed Technology*, Boise, 4(2):57-67, 1979.
- BAKER, K.F. Evolving concepts of biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, 25:67-85, 1987.

- BAKER, K.F. & COOK, R.J. *Biological control of plant pathogens*. San Francisco, W.H. Freeman and Company, 1974. 433 p.
- BAKER, C.J.; STAVELY, J.R.; THOMAS, C.A.; SASSER, M.; MACFALL, J.S. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology*, St. Paul, 73(8):1148-52, 1983.
- BARROS, S.T.; SILVA, I.P.; MENEZES, M. Eficiência de fungicidas no controle de *Colletotrichum lindemuthianum*, inoculado artificialmente em sementes de feijão macassar, cv. Alagoano. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 5(3):384, 1980.
- BARRUS, M.F. *Bean anthracnose*. Ithaca, Cornell University Agricultural Experiment Station, 1921. 215 p.
- BASHIR, M.; ALAM, S.S.; QURESHI, S.H.; MALIK, B.A. Control of mungbean anthracnose by foliar fungicides. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, Islamabad, 6(3):173-5, 1985.
- BASTOS, A. & PORTO, M.D.M. Efeitos da época de inoculação e da concentração de inóculo na transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* pelas sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*). *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 7(3):468, 1982.
- BAUMGART, R.W. & PORTO, M.D.M. Avaliação em ensaios de laboratório, da fungitoxicidade de seis produtos químicos usados para o controle de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scribner em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agronomia Sulriograndense*, Porto Alegre, 14(2):269-84, 1978.
- BETTIOL, W. Seleção de microrganismos antagônicos a *Pyricularia oryzae* Cav. para o controle da bruzone do arroz (*Oryza sativa* L.). Piracicaba, 1988. 140 p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

- BETTIOL, W.; GHINI, R.; VITTI, W.J. Efeito de *Bacillus subtilis* no controle do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) do morango . In: REUNIÃO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS , 3., Piracicaba, 1989. ANAIS. Piracicaba, FEALQ, 1989. p. 85.
- CHAVES, G. La antracnosis. In: SCHWARTZ, H.F. & GALVEZ, G. E . *Problemas de produccion del frijol*. Cali, Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1980. p. 37-48.
- COSTA, A.F.; MIRANDA, P.; MAFRA, R.C. Levantamento e estudo das principais doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Estado de Pernambuco. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1., Goiania, 1982. ANAIS. Goiania, 1982. p. 278-280.
- COOK, R.J. Biological control of plant pathogens: theory to application. *Phytopathology*, St. Paul, 75(1):25-9, 1985.
- COOK, R.J. & BAKER, K.F. *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1983. 539 p.
- COOK, R.T. & PEREIRA, J.L. Strains of *Colletotrichum coffeanum*, the causal agent coffee berry disease, tolerant to benzimidazole compounds in Kenya. *Annual Applied Biology*, 83:365-79 , 1976.
- CUBETA, M.A.; HARTMAN, G.L.; SINCLAIR, J.B. Interaction between *Bacillus subtilis* and fungi associated with soybean seeds. *Plant Disease*, St. Paul, 69(6):506-9, 1985.
- DHINGRA, O.D.; FERNANDEZ, C.M.A.; KUSHALAPPA, A.C. Lack of relationship between field incidence of bean anthracnose and production of seeds, transmitting *Colletotrichum lindemuthianum*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 11(1):95-101, 1986.
- ECHANDI, E. Principales enfermedades de hongos del frijol (*Phaseolus vulgaris*) en los tropicos americanos en diferentes zonas ecologicas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 1:171-7, 1976.

- ELAD, Y. Reasons for the delay in development of biological control of foliar pathogens. *Phytoparasitica*, Rehovot, 18: 99-105, 1990.
- ELLIS, M.A. & GALVEZ, G.E. Patologia de la semilla, In: SCHWARTZ, H.F. & GALVEZ, G.E. *Problemas de produccion del frijol*. Cali, Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1980. p. 303 - 14.
- ELLIS, M.A. & SINCLAIR, J.B. Effect of benomyl field sprays on internally-borne fungi, germination, and emergence of late-harvested soybean seeds. *Phytopathology*, St. Paul, 66:680-2, 1976.
- ELLIS, M.A.; FOOR, S.R.; SINCLAIR, J.B. Effects of benomyl sprays on internally-borne fungi and germination of delay-harvested soybean seeds. *Phytopathologische Zeitschrift*, Hamburg, 85:159-62, 1979.
- ELLIS, M.A.; GALVEZ, G.E.; SINCLAIR, J.B. Effect of foliar applications of systemic fungicides and late harvest on seed quality of dry bean (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Disease Reporter*, Washington, 60(12):1073-6, 1976a.
- ELLIS, M.A.; GALVEZ, G.E.; SINCLAIR, J.B. Efecto de tres fungicidas sobre la germinación de semilla infectada de frijol (*Phaseolus vulgaris*). *Turrialba*, San Jose, 26(4):399-402, 1976b.
- FIGUEIREDO, M.B. Feijoeiros atacados por "antracnose". *O Biológico*, São Paulo, 31(1):18, 1965.
- FURLAN, S.H. Tratamento químico de sementes de feijoeiro visando controle da mancha angular e antracnose. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 13(2):124, 1988.

- GARZA, M.A. Reaccion del frijol en México a tres razas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Bri. & Cav. Secretaria de Agricultura y Ganaderia, México, 1951. 29 p. (Folheto Técnico, 9).
- GHINI, R. Resistência de fungos a fungicidas do grupo dos benzimidazóis. *Summa Phytopathologica*, Jaguariuna, 13(2):74 - 6, 1987.
- GOMES, J.C.; MOREIRA, S.I.P.; SILVA, A.V.; MOURA, M.A. Efeito de níveis de doenças na produção de grãos e alguns de seus componentes e na infecção de sementes em duas cultivares de feijão. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 7(3):465, 1982.
- GUZMAN, P.; DONADO, M.R.; GALVEZ, G.E. Control químico de la antracnosis del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Colombia. *Turrialba*, San Jose, 29(1):59-63, 1979a.
- GUZMAN, P.; DONADO, M.R.; GALVEZ, G.E. Pérdidas econômicas causadas por la antracnosis del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Colombia. *Turrialba*, San Jose, 29(1):65-7, 1979b.
- GOULART, A.C.P. Eficiência de fungicidas no controle de doenças foliares do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Summa Phytopathologica*, Jaguariuna, 15(1):8, 1989a.
- GOULART, A.C.P. Eficiência de fungicidas no tratamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Summa Phytopathologica*, Jaguariuna, 15(1):9, 1989b.
- GRIFFEE, P.J. Resistance to benomyl and related fungicides in *Colletotrichum musae*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 60:433-9, 1973.
- HARTER, L.L. & ZAUMEYER, W.J. A monographic study of bean disease and methods for their control. Washington, Department of Agriculture, 1944. 160 p. (*Technical Bulletin*, 868).
- ISSA, E. Efeito da época de aplicação de fungicidas no controle de doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *O Biológico*, São Paulo, 49(3):69-73, 1983.

- ISSA, E. Estudo comparativo de aplicações de fungicidas, isoladamente, em alternância e em misturas, para controle de doenças das vagens do feijoeiro, *Phaseolus vulgaris* L. *O Biológico*, São Paulo, 51(6):141-6, 1985.
- ISSA, E.; SINIGAGLIA, C.; OLIVEIRA, D.A. Controle da antracnose *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.)Scribner, e da mancha angular, *Isariopsis griseola* Sacc., do feijoeiro, *Phaseolus vulgaris*. *Summa Phytopathologica*, Jaguaruna, 7(1/2): 15, 1981.
- ISSA, E.; SINIGAGLIA, C.; OLIVEIRA, D.A. Controle químico da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib.) e de duas outras doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *O Biológico*, São Paulo, 49(4):89-95, 1983.
- ITO, M.F. Nova nomenclatura das raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.)Scrib. *O Agrônomo*, Campinas, 40(2):176, 1988.
- ITO, M.F.; DUDIENAS, D.; CASTRO, J.L.; SOAVE, J.; MAEDA, J. A. Efeito de fungicidas aplicados na parte aérea sobre a qualidade de sementes de feijão. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 11 (3):627-36, 1986.
- KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas e a importância do monitoramento. *Agrotécnica*, São Paulo, 1:5-7, 1987.
- KIMATI, H. Doenças do feijoeiro. In: GALLI, F., coord. *Manual de Fitopatologia*. 2. ed. São Paulo, Agronômica Ceres, 1980. v. 2, p. 297-318.
- KIMATI, H. Algumas raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.)Scrib. que ocorrem no Estado de São Paulo. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*, Piracicaba, 23:247-64, 1966.

- KIMATI, H. & GALLI, F. *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et v. Schrenk. f. sp. *phaseoli* N.F., fase ascógena do agente causal da antracnose do feijoeiro. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*, Piracicaba, 27:411-37, 1970.
- KULIK, M.M. Symptomatology and epidemiology of several green bean disease incited by seed-borne fungi. *Seed Science and Technology*, Zurich, 12:841-50, 1984.
- LASCA, C.C.; ROLIM, P.R.R.; BRIGNANI NETO, F.; ROSTON, A.J. Estudos preliminares sobre a relação entre a ocorrência de antracnose em cultura de feijão e infecção de sementes por *Colletotrichum lindemuthianum*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 5(3):412, 1980.
- MACHADO, J.C. Tratamento de sementes de feijão. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2., Campinas, 1986. Campinas, Fundação Cargill, 1986. p. 151-7.
- MACHADO, J.C. *Patologia de sementes; fundamentos e aplicações*. Lavras, ESAL/FAEPE, 1988. 107 p.
- MACHADO, J.C.; PITTIS, J.E.; SILVA, S.M.; GOULART, A.P. Avaliação de danos em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) causados por *Colletotrichum lindemuthianum* a partir de sementes - Plantio das secas/1985. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 4., Brasília, 1985. ANAIS. Brasília, 1985. p. 127.
- MARTINEZ-SALAZAR, E. & ANDERSEN, A.L. Effects of temperature on spore germination and host infectivity by three strains of *Colletotrichum lindemuthianum*. *Phytopathology*, St. Paul, 17(1):23, 1957.
- MAZER, P.E.; ANDRADE, A.D.; MACHADO, J.C.; VIEIRA, M.G.G.C. Efeitos de alguns fungicidas no tratamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 15(2):138, 1990.

- MENEZES, J.R. Inspeção de campo visando sanidade de sementes de feijão. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2., Campinas, 1986. Campinas, Fundação Cargill, 1986. p. 69-72.
- MENEZES, J.R. & MOHAN, S.K. Efeito da seleção visual da semente de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre a qualidade sanitária. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1., Goiania, 1982. ANAIS. Goiania, 1982. p. 343-5.
- MENEZES, J.R.; MOHAN, S.K.; BIANCHINI, A.; SOUZA, G.L. Qualidade sanitária de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) no Estado do Paraná. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 6:497-508, 1981.
- MENEZES, J.R.; MOHAN, S.K.; ROSSETTO, E.A.; BIANCHINI, A. Qualidade sanitária de sementes de feijão na região Norte do Estado do Paraná. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 3:122-3, 1978.
- MENTEN, J.O.M. Importância da semente na transmissão de patógenos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2., Campinas, 1986. Campinas, Fundação Cargill, 1986, p. 27-40.
- MENTEN, J.O.M. Sanidade, germinação e vigor de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Summa Phytopathologica*, Jaguariuna, 4(2/4):105-10, 1978.
- MORSHED, M.S. In vitro antagonism of different species of *Trichoderma* on some seed-borne fungi of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Bangladesh Journal of Botany*, Dacca, 14(2):119-26, 1985.
- NAVARRO, A.R. & PUERTA, E.O.D. Efecto de fungicidas en el control de la antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) del frijol (*Phaseolus vulgaris*) bajo condiciones del Oriente Antioqueño. *Fitopatología Colombiana*, Cali, 6(2):87-92, 1977.
- NAVARRO, A.R. & PUERTA, E.O.D. Respuesta del frijol cargamento a densidade de siembra y control quimico de enfermedades. *Phytopathology*, St. Paul, 73(1):123, 1983.

- NAVARRO, A.R.; PUERTA, E.O.D.; ISAZA, L. Efecto combinado de las densidades de poblacion y el control quimico en las enfermedades foliares y el rendimiento del frijol. *Fitopatologia Colombiana*, Cali, 10(1/2):7-9, 1981a.
- NAVARRO, A.R.; PUERTA, E.O.D.; ISAZA, L. Uso alternado de fungicidas para el control de la antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) en frijol (*Phaseolus vulgaris*) en el Oriente Antioqueño. *Fitopatologia Colombiana*, Cali, 10(1/2):3-6, 1981b.
- NEERGARD, P. *Seed pathology*. London, The MacMillan Press, 1979. 839 p.
- ROLIM, P.R.R.; BRIGNANI NETO, F.; OLIVEIRA, D.A.; ROSTON, A. J. Controle químico das doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). II. Controle da antracnose em feijão de inverno. *O Biológico*, São Paulo, 47(8):215-8, 1981a.
- ROLIM, P.R.R.; BRIGNANI NETO, F.; ROSTON, A.J.; OLIVEIRA, D. A. Efeito de fungicidas sobre a antracnose do feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 5(3):456, 1980.
- ROLIM, P.R.R.; BRIGNANI NETO, F.; ROSTON, A.J.; OLIVEIRA, D. A. Controle químico das doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). III. Controle da antracnose em feijão das águas. *O Biológico*, São Paulo, 47(9):245-8, 1981b.
- SANTOS, A.F.; ATHAYDE, J.T.; DAN, E.L.; PACOVA, B.E.V. Fungos associados as sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) no Estado do Espírito Santo. Espírito Santo, EMCAPA, 1986. 3 p. (EMCAPA, 43).
- SARTORATO, A. Antracnose. In: ZIMMERMANN, M.J.O.; ROCHA, M. ; YAMADA, T. *Cultura do feijoeiro; fatores que afetam a produtividade*. Goiânia, Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do Fosforo. 1988. p. 457-77.
- SHAO, F.M. & TERI, J.M. Yield losses in *Phaseolus* bean induced by anthracnose in Tanzania. *Tropical Pest Management*, 31(1): 60-2, 1985.

- SHYAM, K.R. & CHAKRABORTY, P.K. Seed transmission of *Colletotrichum lindemuthianum* in different cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Seed Research*, New Delhi, 13(1):211-2, 1985.
- SIEGEL, M.R. Sterol-inhibiting fungicides: effects on sterol biosynthesis and sites of action. *Plant Disease*, St. Paul, 65(12):986-9, 1981.
- SILVA, S.D.V.M. & LOCH, L.C. Alguns aspectos de epidemiologia da antracnose do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e influência do uso de benomyl sobre componentes do rendimento. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 7:427-35, 1982.
- SINDHAN, G.S. & BOSE, S.K. Evaluation of fungicides against anthracnose of french bean caused by *Colletotrichum lindemuthianum*. *Indian Phytopathology*, New Delhi, 34(3):325-9, 1981.
- STAVELY, J.R.; THOMAS, C.A.; BAKER, C.J.; MACFALL, J.B. Greenhouse control of bean rust with *Bacillus subtilis*. *Phytopathology*, St. Paul, 71(7):771, 1981.
- STEVENSON, J.A. A note on the citation of the bean anthracnose fungus. *Plant Disease Reporter*, Washington, 40(9):831, 1956.
- TANAKA, M.A.S. Patogenicidade e transmissão por sementes do agente causal da ramulose do algodoeiro. Piracicaba, 1990. 111 p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- TANAKA, M.A.S. & JUNQUEIRA NETO, A. Efeito de fungicidas sistêmicos sobre a intensidade de doença na parte aérea e a qualidade sanitária da semente de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 7:381-6, 1982.
- TANAKA, M.A.S. & MACHADO, J.C. Patologia de sementes. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 11(122):40-6, 1985.

- TANAKA, M.A.S.; MENTEN, J.O.M.; MARIANNO, M.I.A. Inoculação artificial de sementes de algodão com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e infecção das sementes em função do tempo de exposição ao patógeno. *Summa Phytopathologica*, Jaguariuna, 15:232-7, 1989.
- TU, J.C. Control of anthracnose disease (*Colletotrichum lindemuthianum*) of navy bean (*Phaseolus vulgaris*). *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent*, 51(2b):645-51, 1986. (Annual Review of Phytopathology, 1987).
- TU, J.C. Effect of temperature on incidence and severity of anthracnose on white bean. *Plant Disease*, St. Paul, 66:781 - 3, 1982.
- TU, J.C. Epidemiology of anthracnose caused by *Colletotrichum lindemuthianum* on white bean (*Phaseolus vulgaris*) in in Southern Ontario: survival of the pathogen. *Plant Disease*, St. Paul, 67:402-4, 1983.
- TU, J.C. Control of bean anthracnose caused by the delta and lambda races of *Colletotrichum lindemuthianum* in Canada. *Plant Disease*, St. Paul, 72(1):5-8, 1988.
- TU, J.C. & JARVIS, W.R. Ontogeny, organization, and longevity of sclerotium-like structures produced by *Colletotrichum lindemuthianum* in the presence of benomyl. *Canadian Journal of Plant Pathology*, Ontario, 1:17-22, 1979a.
- TU, J.C. & JARVIS, W.R. Response of *Colletotrichum lindemuthianum* to benomyl. *Canadian Journal of Plant Pathology*, Ontário, 1:12-6, 1979b.
- TU, J.C. & McNAUGHTON, M.E. Isolation and characterization of benomyl resistant biotypes of the delta race of *Colletotrichum lindemuthianum*. *Canadian Journal Plant Science*, Ontário, 60:585-9, 1980.

- VASUDEVA, R.S. & CHAKRAVARTHI, B.P. The antibiotic action of *Bacillus subtilis* in relation to certain parasitic fungi , with special reference to *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Gront. *Annales of Applied Biology*, Wellesbourne, 41 (4):612-8, 1954.
- VIEIRA, C. *O feijoeiro comum; cultura, doenças e melhoramento*. Viçosa, Imprensa Universitária, 1967. 220 p.
- ZAMBOLIM, L. & CHAVES, G.M. Doenças do feijoeiro e seu controle. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 4(46):50-63, 1978.
- ZAUMEYER, W.J. & THOMAS, H.R. A monographic study of bean disease and methods for their control. Washington, USDA, 1957, p. 5-15. (Technical Bulletin, 868).
- WALKER, J.C. Diseases of bean and lima bean. In: WALKER, J.C., ed. *Diseases of vegetable crops*. New York, McGraw-Hill , 1952. p. 10-52.