SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE *Phomopsis sojae* E
Phomopsis phaseoli f. sp. *meridionalis* A
FUNGICIDAS E EFEITO DO TRATAMENTO DE
SEMENTES DE SOJA (*Glycine max*) INOCULADAS
COM OS PATÓGENOS

JOÃO JOSÉ DIAS PARISI

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ OTÁVIO MACHADO MENTEN

Dissertação apresentada à Escola
Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz", Universidade de São
Paulo, para obtenção do título
de Mestre em Agronomia, Área de
Concentração: Microbiologia Agrí-
cola

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
outubro - 1997

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Parisi, João José Dias

Sensibilidade in vitro de *Phomopsis sojae* e *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* a fungicidas e efeito do tratamento de sementes de soja (*Glycine max*) inoculadas com os patógenos / João José Dias Parisi. - - Piracicaba, 1997.

61 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1997.
Bibliografia.

1. Cancro-da-haste-da-soja 2. Controle químico 3. Doença de planta 4. Fungicida
5. Fungo fitopatogênico 6. Inoculação 7. Queima-da-soja 8. Semente de soja I. Título

CDD 632.43

**SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE *Phomopsis sojae* E
Phomopsis phaseoli f. sp. *meridionalis* A
FUNGICIDAS E EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES DE
SOJA (*Glycine max*) INOCULADAS COM OS PATÓGENOS**

JOÃO JOSÉ DIAS PARISI

Aprovado em: 27.11.1997

Comissão julgadora:

Prof. Dr. José Otávio Machado Menten

ESALQ/USP

Prof. Dr. Modesto Barreto

UNESP/Jaboticabal

Prof. Dra. Maria Aparecida de Souza Tanaka

IAC/Campinas

Prof. Dr. José Otávio Machado Menten

Orientador

À minha família e à minha namorada
Marise, pelo apoio e carinho
DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Marise Cagnin Martins, minha namorada, pelo carinho, insistência e compreensão.

Ao Prof. Dr. José Otávio Machado Menten, pela oportunidade, confiança e amizade.

Ao Prof. Dr Hiroshi Kimati, conselheiro nas horas de dúvida.

Ao Prof. Dr. Luiz Gonzaga do Prado Filho, pelo ensino e amizade.

Aos Profs. Dra. Sônia Piedade e Dr. Carlos Tadeu do Santos Dias pela colaboração nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Tasso Leo Krugner, pela colaboração no Summary.

À Dra. Maria Heloísa Duarte Moraes, pela paciência e amizade.

À Dr. Ana Dionisia da L. C. Novembre, pelo ensino e estímulo.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Às Bibliotecárias: Kátia e Beatriz, pela colaboração na correção das referências bibliográficas e pela amizade.

Às secretárias Marina e Regina, por toda colaboração e amizade.

À Eng. Agr^o Flávia Patrício, por ter fornecido as sementes utilizadas nos testes.

Ao Pedro Artuso e ao Pedro da Silva, pela colaboração na execução do trabalho.

Ao Nelson Massola, amigo das horas difíceis.

Ao apoio do Joãodenir.

À Fernanda, Rodolfo e Edivaldo pela auxílio nos trabalhos laboratoriais.

Ao amigo Renê, pela colaboração.

Aos amigos Renatinha, Nilceli, Sílvia, Kika, Kátia, Célia, Elisa, Cecília, Luciana, Raquel, Marcelo, José Renato, Renato, Hélio, Nelson, Jeferson, e a todos que neste momento posso ter me esquecido, e que de alguma maneira colaboraram para que eu conseguisse chegar ao término de mais uma caminhada.

Ao Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP, pela oportunidade, e a todos demais professores, funcionários e colegas.

A DEUS, pela minha existência, por tudo conseguido, e por nunca ter me abandonado.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	x
SUMMARY	xii
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1. Doenças da soja causadas por fungos do complexo <i>Diaporthe/Phomopsis</i>	03
2.1.1. Podridão de sementes	03
2.1.2. Queima e seca da haste e da vagem	03
2.1.3. Cancro da haste da soja	05
2.2. A transmissão semente-planta de <i>Phomopsis sojae</i> e <i>Phomopsis phaseoli</i> f. <i>sp. meridionalis</i>	09
2.3. Tratamento químico de sementes de soja	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Fungitoxicidade <i>in vitro</i>	20
3.2. Fungitoxicidade <i>in vivo</i>	22
3.2.1. Teste de sanidade	24
3.2.2. Teste de germinação	25
3.2.3. Teste de emergência em solo	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1. Fungitoxicidade <i>in vitro</i>	26
4.2. Fungitoxicidade <i>in vivo</i>	33
4.2.1. Teste de sanidade.....	33
4.2.2. Germinação e emergência em solo	36
5. CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
APÊNDICE	52

LISTA DE FIGURAS

FIGURA Nº	Página
01 Sensibilidade <i>in vitro</i> de <i>Phomopsis sojae</i> , isolado Q4 (Foto 1), e <i>Phomopsis phaseoli</i> f. sp. <i>meridionalis</i> , isolado C2 (Foto 2), a vários fungicidas, na concentração de 1 ppm	29
02 Sensibilidade <i>in vitro</i> de <i>Phomopsis sojae</i> , isolado Q4 (Foto 1), e <i>Phomopsis phaseoli</i> f. sp. <i>meridionalis</i> , isolado C2 (Foto 2), a vários fungicidas, na concentração de 10 ppm	30
03 Sensibilidade <i>in vitro</i> de <i>Phomopsis sojae</i> , isolado Q4 (Foto 1), e <i>Phomopsis phaseoli</i> f. sp. <i>meridionalis</i> , isolado C2 (Foto 2), a vários fungicidas, na concentração de 100 ppm	31

LISTA DE TABELAS

TABELA Nº	Página
01 Designação e procedência dos isolados de <i>Phomopsis phaseoli</i> f. sp. <i>meridionalis</i> (Ppfsm) e <i>P. sojae</i> (Ps) de sementes de soja	19
02 Fungicidas comparados quanto a eficiência <i>in vitro</i> para controle de <i>Phomopsis phaseoli</i> f. sp. <i>meridionalis</i> e <i>P. sojae</i> isolados de sementes de soja	21
03 Fungicidas comparados quanto a eficiência <i>in vivo</i> no tratamento de sementes de soja para o controle de <i>Phomopsis phaseoli</i> f. sp. <i>meridionalis</i> e <i>P. sojae</i>	24
04 Concentração (ppm) de fungicida necessária para inibir em 50 % (ED ₅₀) o crescimento micelial de quatro isolados de <i>Phomopsis phaseoli</i> f. sp. <i>meridionalis</i> (C1, C2, C3 e C4). Piracicaba, 1996	27
05 Concentração (ppm) de fungicida necessária para inibir em 50 % (ED ₅₀) o crescimento micelial de quatro isolados de <i>Phomopsis sojae</i> (Q1, Q2, Q3 e Q4). Piracicaba, 1996	28
06 Incidência de <i>Phomopsis sojae</i> em sementes de soja não inoculadas ou inoculadas artificialmente e submetidas ou não ao tratamento com fungicidas, avaliadas pelo método do papel de filtro, após diferentes períodos de incubação. Piracicaba, 1996	34
07 Incidência de <i>Phomopsis phaseoli</i> f. sp. <i>meridionalis</i> em sementes de soja não inoculadas ou inoculadas artificialmente e submetidas ou não ao tratamento com fungicidas, avaliadas pelo método do papel de filtro, após diferentes períodos de incubação. Piracicaba, 1996	35

08	Efeito do tratamento químico sobre a germinação e emergência de sementes de soja inoculadas com <i>Phomopsis sojae</i> . Piracicaba, 1996	37
09	Efeito do tratamento químico sobre a germinação e emergência de sementes de soja inoculadas com <i>Phomopsis phaseoli</i> f. sp. <i>meridionalis</i> . Piracicaba, 1996	37

SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE *Phomopsis sojae* E *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* A FUNGICIDAS E EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA (*Glycine max*) INOCULADAS COM OS PATÓGENOS

Autor: JOÃO JOSÉ DIAS PARISI

Orientador: PROF. DR. JOSÉ OTÁVIO M. MENTEN

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de produtos para o controle de *Phomopsis sojae* e *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* através de testes de fungitoxicidade *in vitro* e *in vivo*.

No teste *in vitro* foram utilizados 4 isolados de *P. sojae* e 4 isolados de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*. Foram comparados 14 fungicidas quanto à eficiência na porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), com 0, 1, 10 e 100 ppm do ingrediente ativo. Através do cálculo da ED₅₀ (dose necessária para inibir em 50 % o crescimento micelial), foram considerados altamente eficientes (ED₅₀ < 1 ppm), para ambos os patógenos, os produtos benomyl, carbendazin, thiabendazole e difenoconazole; além desses, o quintozene também se destacou, apesar de sua eficiência ter variado conforme o isolado. Observou-se, de uma maneira geral, uma menor sensibilidade dos isolados de *P. sojae*, concluindo-se que os produtos adequados para esse patógeno o são também para *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*.

Para a realização dos testes *in vivo* foi escolhido um isolado de cada patógeno, usando-se como critério o que apresentou maior ED₅₀ (mais tolerante) para todos os produtos químicos comparados *in vitro*. As sementes do cultivar IAC 14, altamente suscetível a *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, foram inoculadas artificialmente pelo método do contato, com os dois patógenos, sendo depois tratadas com os seguintes fungicidas e doses (g i.a./100 kg sementes): benomyl (50), carbendazin (50), thiabendazole (20), difenoconazole (5) e quintozene (225). O teste de sanidade (pelo método do papel de

filtro) foi avaliado aos 7, 10 e 13 dias, contando-se o número de picnídios e picnídios + micélio típico. Os melhores tratamentos, que não diferiram entre si, foram benomyl, carbendazin e thiabendazole. Na testemunha, a incidência foi de 98 % para ambos os patógenos, considerando-se picnídios + micélio típico, aos 10 ou 13 dias de incubação.

No teste de germinação, somente sementes inoculadas com *P. sojae* mostraram diferença significativa em relação as sementes não inoculadas e não tratadas. Os demais tratamentos não diferiram entre si para ambos os patógenos. A emergência não foi afetada por nenhum tratamento, para ambos os patógenos.

Esses resultados indicam que a importância do tratamento químico de sementes, principalmente para o agente causal do cancro da haste, está relacionada com a não introdução desse patógeno em áreas livres do mesmo. Dentre os fungicidas e doses comparadas, deve-se recomendar o tratamento de sementes de soja portadoras de *P. sojae* e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* com benomyl, carbendazin ou thiabendazole.

***IN VITRO* SENSIBILITY OF *Phomopsis sojae* AND *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* TO FUNGICIDES AND EFFECT IN SOYBEAN (*Glycine max*) SEED TREATMENTS INOCULATED WITH BOTH PATHOGENS**

Author: JOÃO JOSÉ DIAS PARISI

Adviser: PROF. DR. JOSÉ OTÁVIO M. MENTEN

SUMMARY

The present study was carried out to evaluate different fungicides for the control of *Phomopsis sojae* and *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* through *in vitro* and *in vivo* fungitoxicity tests.

In the *in vitro* test, 4 isolates of *P. sojae* and 4 isolates of *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* were used. Fourteen fungicides were compared for their efficiency in inhibiting the micelial growth of the pathogens on PDA containing 0, 1, 10 and 100 ppm of the active ingredients. By calculating the ED₅₀ (dose required for inhibiting 50 % of the micelial growth), benomyl, carbendazin, thiabendazole and difenoconazole were considered highly efficient (ED₅₀ < 1 ppm). Although its efficiency was variable among the isolates, quintozone showed superior among others fungicidess. *P. sojae* was, in general, less sensible to the fungicides than *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, although both pathogens showed similar patterns of responses to the fungicides.

One isolate of each pathogen was chosen for *in vivo* tests, according to the higher ED₅₀ values obtained for all products tested. Seeds of the cultivar IAC 14, which is highly susceptible, were inoculated with both pathogens through the contact method and subsequently treated with the following fungicides and doses (g a.i./100 kg of seeds): benomyl (50), carbendazin (50), thiabendazole (20), difenoconazole (5) and quintozone (225). The health test performed through the blotter method was evaluated at 7, 10 and 13 days of incubation, by counting the number of pycnidia and pycnidia + typical mycelium. The best treatments, which were not different among themselves, were benomyl, carbendazin and thiabendazole. No treated seeds showed an incidence of 98 %

for both pathogens, considering pycnidia + typical mycelium, at 10 or 13 days of incubation.

In the germination test only inoculated seeds with *P. sojae* showed differences in relation to the seeds not inoculated and not treated with fungicides. Others treatments did not show differences in relation to both pathogens. Emergence was not affected by both pathogens or fungicide treatments.

Results indicate that importance of the chemical treatment of the seeds is related with the non introduction of the pathogen to areas free of the pathogen. According to the results obtained, seeds containing *P. sojae* and *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* should be treated with benomyl, carbendazin or thiabendazole.

1. INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é o principal produto agrícola de exportação do Brasil, ocupando uma área de mais de 12 milhões de hectares. Essa cultura, durante muito tempo, foi explorada sem muita preocupação com o aspecto fitossanitário; porém, nos últimos anos, as severas perdas de produtividade exigiram maior atenção para as doenças (Yorinori, 1995).

A comercialização de sementes não certificadas e/ou recomendadas de uma região ou Estado para outro, é um fator responsável pela introdução de alguns patógenos em áreas isentas (Arias, 1995). As sementes de soja podem transportar diversos fungos patogênicos responsáveis por perdas consideráveis à cultura, como os do gênero *Phomopsis*. A fase imperfeita do agente causal da queima e seca da haste e da vagem é *P. sojae* Lehman, e do agente causal do cancro da haste é *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* Morgan - Jones. A preocupação dos produtores de sementes de soja e agricultores era principalmente com *P. sojae*. A partir de 1989, com o surgimento no Brasil do cancro da haste, *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* passou também a ser problema entre nós.

A melhor estratégia de controle das doenças é a prevenção, através do uso de sementes sadias, tratamento químico das sementes e o uso de cultivares resistentes, quando disponíveis. Na prática, essas medidas são pouco valorizadas, sendo adotadas apenas quando são constatadas perdas econômicas elevadas.

O tratamento químico de sementes, uma das medidas mais simples e seguras, até a safra 1993/1994 perfazia apenas 28 % da área total semeada com soja no Brasil, a partir de quando houve um incremento significativo na adoção dessa tecnologia. Na safra

1995/1996 aproximadamente 54 % da área total de soja foi semeada com sementes tratadas (Henning, 1996).

Como *P. sojae* e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* são facilmente confundidos sob o ponto de vista morfológico e a utilização de sementes livres do agente causal é um dos principais métodos de se evitar a disseminação dos fungos para áreas isentas dos mesmos, há a necessidade de se verificar a eficiência de fungicidas no controle dos agentes causais de ambas as doenças concomitantemente.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a fungitoxicidade *in vitro* e *in vivo* de quatorze fungicidas sobre quatro isolados de *P. sojae* e quatro isolados de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* e o efeito do tratamento químico de sementes na sanidade, germinação e emergência de sementes inoculadas com os patógenos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Doenças da soja causadas por fungos do complexo *Diaporthe/Phomopsis*

As mais importantes doenças da soja causadas por espécies de fungos pertencentes ao complexo *Diaporthe/Phomopsis* são a podridão de sementes, a seca da haste e da vagem e o cancro da haste (Ploper, 1989).

2.1.1. Podridão de sementes

A podridão de sementes é causada por diversas espécies do gênero *Phomopsis*, principalmente *P. longicolla* Hobbs. As formas anamórficas dos fungos causadores da seca da haste e da vagem e do cancro da haste da soja também causam a podridão de sementes de soja (Sinclair & Backman, 1989).

Esta doença é típica de final de ciclo, sendo mais severa quando ocorrem chuvas e temperaturas altas na colheita. Infecções significativas ocorrem após as sementes terem atingido a maturidade fisiológica. Esta doença está distribuída em todas as partes do mundo onde se cultiva a soja (Sinclair & Backman, 1989).

2.1.2. Queima e seca da haste e da vagem

A queima e seca da haste e da vagem é causada pelo fungo *D. phaseolorum* var. *sojae* (fase anamórfica *P. sojae*). Esta doença foi observada pela primeira vez nos E.U.A. em 1920, sendo encontrada em vários outros países como Brasil, Canadá, Índia, etc. (Sinclair & Backman, 1989).

A doença ocorre naturalmente na maioria das lavouras de soja, sem causar sérios prejuízos ao rendimento, porém, pode reduzir a qualidade das sementes, especialmente quando ocorrem períodos chuvosos associados com altas temperaturas durante a fase de maturação (Henning, 1994). Na safra de 1990/91, o prolongamento das chuvas nos cerrados do país, até meados de maio, fez com que extensas áreas de produção de sementes fossem descartadas (EMBRAPA, 1995). Esta doença, juntamente com a antracnose, é responsável pelo descarte de grande número de lotes de sementes (EMBRAPA, 1996).

O patógeno ataca hastes e vagens, causando a seca das mesmas (Lasca et al., 1987). Os sintomas da doença aparecem durante a fase final do ciclo, sendo caracterizados por pontuações pretas (picnídios) que são formadas linearmente nas hastes e pecíolos, e ao acaso sobre as vagens (EMBRAPA, 1995). Em períodos secos, os picnídios podem ficar limitados a pequenas regiões, geralmente próximas aos nós. Na fase vegetativa a infecção torna-se sistêmica, podendo atingir as sementes logo no início de sua formação. Após colonizar o tegumento, o fungo atinge os cotilédones e a infecção se estende até a plúmula. Sementes superficialmente infectadas por *P. sojae*, quando semeadas em solo úmido, geralmente emergem; porém, o fungo desenvolvido no tegumento impede que os cotilédones se abram e não permite que as folhas primárias se desenvolvam (EMBRAPA, 1996). Peterson & Strelecki (1965) relacionaram a presença de *P. sojae* com redução de germinação e também com enfraquecimento das plântulas.

A viabilidade do fungo tende a decrescer com o passar do tempo, durante o armazenamento em condições de ambiente, ocorrendo um aumento na porcentagem de germinação das sementes (Ito & Tanaka, 1993; Henning, 1994). Conforme Patricio et al. (1991) e Goulart (1997), *P. sojae* é considerado um fungo que diminui a germinação das sementes em análises de laboratório, não afetando os resultados de emergência em areia e no campo. Isto está de acordo com os dados obtidos por Henning & França Neto (1980), segundo os quais o fungo torna o teste padrão de germinação (rolo de papel a 25° C) inviável em lotes de sementes com altos índices de infecção, porque a temperatura utilizada no teste é a ótima para o desenvolvimento do patógeno; neste teste o fungo não

tem que concorrer com possíveis organismos antagonistas presentes no solo, e o tegumento fica aderido aos cotilédones, dando condições para que o fungo se desenvolva, causando o apodrecimento dos mesmos.

As recomendações da EMBRAPA (1996) para o controle da seca da haste e da vagem incluem rotação de culturas, maior espaçamento entre as linhas, manejo adequado do solo e tratamento químico da semente.

2.1.3. Cancro da haste da soja

O cancro da haste foi originalmente descrito em Iowa e na região norte dos Estados Unidos da América, no final de 1940, tendo voltado a causar significativos danos na região sul deste país em 1973 (Backman et al., 1985). No Brasil foi constatado, pela primeira vez, em fevereiro de 1989, no município de Ponta Grossa, Paraná, e em maio do mesmo ano, em Rondonópolis, Mato Grosso (Yorinori et al., 1989). Sua disseminação foi muito rápida, sendo encontrado na safra seguinte em todas as regiões produtoras de soja do país. Atualmente, ocorre também no norte da Argentina, na Bolívia e no Paraguai (Yorinori, 1996).

O fungo identificado no Brasil foi *D. phaseolorum* f. sp. *meridionalis*, que é o mesmo que ocorre na região sul do E.U.A. Este fungo difere do *D. phaseolorum* var. *caulivora*, de ocorrência comum no norte dos E.U.A. e já constatado no Brasil há muito tempo, por algumas características morfológicas e adaptação a temperaturas mais altas, além da maior agressividade (Ito & Tanaka, 1993).

Segundo Henning (1994), na safra 1991/92, milhares de hectares de soja dos Estados do Paraná, de Santa Catarina e, inclusive do Paraguai, foram dizimados pela doença. As perdas com esta doença podem atingir 100 % da produção (Yorinori, 1990). Na safra 1994/95 ocorreram perdas de cerca de 100 milhões de reais no Brasil (Henning, 1996). No cerrados, perdas econômicas de 50 milhões de dólares, ocorridas de 1991 a 1995, justificam a inclusão da análise sanitária de sementes pelas empresas produtoras de sementes certificadas (Roman et. al. 1996). A nível nacional, as perdas acumuladas

pelo cancro da haste, no período de 1989/95, foram estimadas em mais de US\$ 350 milhões (Yorinori, 1996).

O agente causal da doença já recebeu várias denominações, como *D. batatatis*, que causa a seca da raiz de batata doce; *D. sojae*, responsável pela seca da haste e da vagem de soja e *D. phaseolorum*, causador da seca da vagem de feijão lima. Atualmente, duas entidades foram reconhecidas como causadoras do cancro da haste da soja: *D. phaseolorum* f. sp. *meridionalis* (anamorfo *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*) e *D. phaseolorum* var. *caulivora* (anamorfo *P. caulivora*) (Morgan- Jones, 1992).

A fase imperfeita, *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, é a que ocorre nos tecidos infectados mesmo antes da morte da planta e se dissemina na mesma safra através dos conídios produzidos em picnídios; a fase perfeita, *D. phaseolorum* f. sp. *meridionalis*, ocorre desde o final do ciclo da cultura, nas plantas mortas prematuramente, até o início da safra seguinte, nos restos culturais, sendo responsável pelas primeiras infecções através dos ascósporos, liberados dos peritécios. Os ascósporos são os responsáveis pela formação dos cancrios que provocam a morte da planta e, conseqüentemente, afetam a produção; os conídios, produzidos nos cancrios formados pelos ascósporos, não devem contribuir na redução da produtividade, mas sua disseminação, mais ao final da safra, produz cancrios secundários que promovem o aumento potencial de inóculo na safra seguinte, colonizando as plantas antes das colheita e os restos culturais, onde evoluem para a fase perfeita e produzem os ascósporos (Yorinori, 1990).

O fungo é capaz de infectar e formar lesões na haste, nos pecíolos e nas nervuras das folhas, porém os sintomas mais característicos são observados na haste da soja. Sob condições de campo, os primeiros sintomas podem ser observados por volta de 30 dias após a semeadura, porém, a formação do cancro só é observada com 50 a 60 dias após o início da infecção (Rupe, 1989). Os sintomas na parte externa da haste evoluem lentamente, iniciando por pequenos pontos necróticos ou manchas castanho-avermelhadas. Essas lesões desenvolvem-se rapidamente, formando cancrios deprimidos e escuros, que circundam as áreas afetadas, podendo causar estrangulamento e morte das plantas. Na fase final da evolução da doença, ocorre necrose da medula, as folhas ficam

“carijós” e as plantas mortas prematuramente ficam com as folhas pendentes ao longo da haste (Yorinori, 1990; Ito & Tanaka, 1993).

A incidência da doença e os níveis de danos que pode causar dependem muito da ocorrência de condições climáticas favoráveis, da suscetibilidade das cultivares e do potencial de inóculo do fungo na semente e/ou nos restos de cultura da safra anterior (Yorinori, 1990). O fungo é altamente dependente das chuvas para disseminar os esporos dos restos de cultura para as plântulas em desenvolvimento. Quanto mais freqüentes as chuvas nos primeiros 40-50 dias após a semeadura, maior a quantidade de esporos do fungo que serão liberados dos restos de cultura e atingirão as hastes das plantas. Após esse período, a soja estará suficientemente desenvolvida e a folhagem estará protegendo o solo e os restos de cultura do impacto das chuvas, portanto, liberando menos inóculo. Com relação às cultivares, sabe-se que, nas mais suscetíveis, o desenvolvimento da doença é mais rápido, podendo matar toda a lavoura, causando perda total. Nas infecções tardias (após 50 dias da semeadura) e em cultivares mais resistentes haverá menos plantas mortas, com a maioria afetada parcialmente (EMBRAPA, 1995).

A rápida disseminação do cancro da haste é explicada pela intensa movimentação de sementes de uma região para outra, pela grande capacidade de multiplicação do fungo causador da doença, pela grande extensão de áreas de soja suscetíveis em monocultura e pelas condições climáticas favoráveis na maioria das regiões produtoras (Yorinori, 1996).

O patógeno sobrevive nos restos culturais e nas sementes, que se constituem nas principais fontes de inóculo para o plantio seguinte. O nível de infecção nas sementes é baixo, variando de 1 % (Henning, 1994), menos de 2 % (Sinclair & Backman, 1989) ou de 2 a 5 % (Ito & Tanaka, 1993). Apesar desse baixo índice, a semente é o veículo mais eficiente de disseminação a longas distâncias, uma vez que qualquer semente que viabilize a introdução do fungo em uma área não contaminada, poderá, em poucas safras, ser responsável por severas perdas (Yorinori, 1990).

Cuidados especiais devem ser tomados para que não haja a introdução e sobrevivência de diferentes patógenos exóticos, ou mesmo isolados ou raças mais

agressivas, originadas de diferentes países ou regiões, para outros ainda isentos (Kaiser, 1987).

Roman (1995) através do estudo do comportamento de isolados originados de diversas regiões do Brasil e do Paraguai, constatou por meio de análise de proteínas a possibilidade de ocorrência de variação genética do patógeno *D. phaseolorum* f. sp. *meridionalis*.

O controle da doença exige a integração de todas as medidas capazes de reduzir o potencial de inóculo do patógeno na lavoura: uso de cultivares resistentes, tratamento de sementes, rotação/sucessão de culturas, manejo do solo com a incorporação dos restos culturais, escalonamento de épocas de semeadura, maior espaçamento entre as linhas e adubação equilibrada (EMBRAPA, 1995).

A diferenciação entre *P. sojae* e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, apesar de não ser facilmente detectada, pode ser efetuada através de algumas características morfológicas. Nas sementes infectadas com *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* há a formação de um micélio fino, denso e oprimido sobre a semente, contrastando com o do *Phomopsis sojae*, que é geralmente mais aéreo, solto, mais espesso, com aspecto cotonoso e com coloração variando de branco a levemente castanho. Os picnídios de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* apresentam coloração escura, praticamente imersos no interior do micélio, os picnídios geralmente liberam os cirros de conídios através de fendas e não de poros, sendo que a massa de conídios varia de coloração de branco creme a amarelo intenso, enquanto que os picnídios de *Phomopsis sojae* apresentam coloração castanho-escura a preta, geralmente salientes, acima do micélio na fase de esporulação; a massa de conídios geralmente é esbranquiçada, podendo ser levemente amarelada a rósea. Essas características citadas como diferenciadoras entre *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* e *Phomopsis sojae*, principalmente com relação à morfologia e coloração das colônias e dos picnídios, são consideradas preliminares, uma vez que há também grande variabilidade entre as colônias de *Phomopsis sojae* no teste de papel de filtro, sendo que nenhum estudo intensivo e detalhado foi ainda realizado no Brasil com os dois tipos de *Phomopsis* (Yorinori, 1991).

2.2. Transmissão semente-planta de *P. sojae* e *P. phaseoli*. f. sp. *meridionalis*

As sementes podem carregar, na sua superfície ou internamente, bactérias, fungos, vírus e outros organismos (Rahalkar & Neergaard, 1969), servindo como meio de transmissão ou transporte de patógenos e constituindo-se, desta forma, em um dos principais meios de disseminação de patógenos de plantas.

Menten & Bueno (1987) definem transmissão como a disseminação do patógeno que proporciona uma infecção bem sucedida, dando origem a uma planta doente e transporte, como a disseminação do patógeno através da semente, que pode ser detectado e quantificado por meio de testes de sanidade. Segundo Menten (1991b), a transmissão é detectada normalmente através da observação dos sintomas causados pelo patógeno; entretanto, em algumas situações, os tecidos colonizados podem não mostrar os sintomas (infecção latente). Infecção latente é o estado no qual um hospedeiro é infectado com um patógeno mas não mostra sintomas, sendo que este estado persiste até que sinais ou sintomas apareçam, estimulados por condições ambientais ou nutricionais ou pelo estágio de maturidade do hospedeiro e/ou patógeno (Agrios, 1988).

Segundo Sinclair (1981) e Menten & Bueno (1987), a disseminação de patógenos por sementes é importante quando se observam as seguintes razões:

1. A semente, por ser um ótimo substrato nutritivo, assegura a presença do inóculo viável e patogênico por mais tempo;
2. A presença do patógeno na semente favorece a infecção primária;
3. Há uma distribuição homogênea do inóculo pela área semeada;
4. Áreas isentas podem ser contaminadas;
5. É bastante eficiente e independe da distância.

A quantidade de doença na planta, presumivelmente, deve ser proporcional ao transporte e à transmissão do patógeno pelas sementes. No entanto, trabalhos de pesquisa realizados com algodoeiro e outras culturas têm demonstrado que nem sempre existe essa correlação positiva entre a intensidade dos sintomas no campo e a presença do patógeno nas sementes (Tanaka, 1991). Estudos realizados com ramulose por Tanaka (1990), utilizando 5 genótipos de algodoeiro, confirmaram a importância da idade da

planta ao ser infectada e da sua constituição genética na transmissão do patógeno da planta para a semente, ao verificar que, para todos os genótipos utilizados, a transmissão do patógeno para as sementes foi maior quando a inoculação foi efetuada em plantas com maçãs formadas, entretanto, maiores índices de doença nas plantas foram observadas quando a inoculação foi realizada 30 dias após a semeadura.

Forcelini (1992), trabalhando com amostras de trigo, com incidência de *Bipolaris sorokiniana* entre 6 e 84%, observou que a transmissão desse patógeno das sementes ao mesocótilo, coleóptilo e plúmula atingiu percentuais de 68,7, 71,5 e 20,1, respectivamente. Segundo o autor, *B. sorokiniana* apresenta uma elevada taxa de transmissão, que varia de 60 a 90 %.

A taxa de transmissão semente-plântula de *P. sojae* é variável, sendo bastante reduzida se a infecção das sementes ocorrer após a sua maturação fisiológica (Ito & Tanaka, 1993).

Roman et al. (1996) constataram em testes de sanidade de sementes das cultivares FT- Seriêma e Emgopa, índices de transmissão de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* de 2,1 % e 1,33 %, respectivamente, quando o papel de filtro foi umedecido com água e 1,83 % e 1,85 %, quando umedecido com paraquat.

A transmissão de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* via semente é baixa, possivelmente em virtude de barreiras estruturais da vagem e/ou de fatores climáticos desfavoráveis à infecção, o que não descarta sua importância na disseminação do patógeno para outras áreas sem histórico da doença (Garrido, 1994). Ainda este autor, trabalhando com *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, verificou que tanto as cultivares suscetíveis quanto as resistentes mostraram-se infectadas quando suas sementes foram depositadas em solos infestados artificialmente em diferentes profundidades. A infecção latente causou redução do peso da matéria seca da parte aérea e da raiz das plantas de soja inoculadas. As cultivares, suscetíveis ou não, mantidas até a senescência, apresentam desenvolvimento de cancrios e picnídios; portanto esse patógeno, mesmo sem causar sintomas, pode causar infecção latente (Sinclair, 1981).

De acordo com Garrido (1994), a baixa taxa de transmissão reforça a hipótese de que há pouca possibilidade de epidemia de cancro da haste ocorrer no primeiro ano de plantio de sementes portadoras do patógeno. Segundo o autor, mais pesquisas são necessárias para determinar a importância epidemiológica de sementes portadoras do patógeno, no desenvolvimento do cancro da haste.

2.3. Tratamento químico de sementes de soja

As sementes desempenham um importante papel na disseminação de patógenos, uma vez que funcionam como fonte de inóculo para cultivos posteriores, sendo responsáveis também pela introdução de patógenos em áreas livres de doenças (Goulart et al., 1995). Nos locais onde já existe uma determinada doença, as sementes portadoras podem introduzir novas raças mais virulentas, aumentando os danos (Ribeiro, 1996).

A ocorrência de fitopatógenos em sementes é de suma importância, já que elas são as unidades propagativas mais usadas pelo homem (Machado, 1982). Os patógenos podem ser transportados em mistura com as sementes (escleródios, galhas, etc.), aderidos na superfície delas, ou internamente, nos cotilédones e embrião.

Na cultura da soja, aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematóides e vírus já foram identificadas no Brasil. As principais e seus respectivos agentes são: mancha olho-de-rã (*Cercospora sojina*), mancha púrpura da semente e crestamento foliar (*Cercospora kikuchii*), mancha parda (*Septoria glycines*), cancro da haste (*D. phaseolorum* var. *meridionalis* e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*), seca e queima da haste e da vagem (*D. phaseoli* f. sp. *sojae* e *P. sojae*), antracnose (*Colletotrichum dematium* var. *truncata*), mancha alvo e podridão da raiz (*Corynespora casicola*), podridão branca da haste (*Sclerotinia sclerotiorum*), podridão parda da haste (*Phialophora gregata*), podridão vermelha da raiz (*Fusarium solani*), podridão da raiz e da base da haste (*Rhizoctonia solani*), necrose da base do pecíolo (púlvino), mosaico comum da soja (vírus do mosaico comum da soja), queima do broto da soja (vírus da necrose branca do fumo), nematóides de galhas (*Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*), nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) (EMBRAPA, 1996).

Segundo Henning et al. (1991b), os fungos fitopatogênicos transmitidos por sementes de soja mais importantes são: *Phomopsis* spp., *Fusarium semitectum*, *Colletotrichum dematium* var. *truncata*, *Cercospora kikuchii* e *Cercospora sojina*, além de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp.

O melhor método para diminuir a disseminação de patógenos pelas sementes é sempre o uso de sementes com boa qualidade fisiológica e sanitária ou dentro dos padrões de tolerância sugeridos para as principais culturas e doenças (Machado, 1982). Segundo Menten (1997), foi proposto em 1995 para o fungo *Phomopsis* spp. na cultura da soja, pela EMBRAPA/SPSB (Serviço de Produção de Sementes Básicas) e COPASEM/ABRATES (Comitê de Patologia de Sementes da Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes), o nível de tolerância de 35 % para sementes básicas; 40 % para sementes certificadas e 45 % para sementes fiscalizadas, sendo que até estes valores deve se efetuar tratamento químico e, acima destes, se faz descarte dos lotes. Quando não se dispõe de sementes de boa qualidade sanitária em quantidade suficiente, ou se deseja introduzir materiais de procedências duvidosas, ou ainda para reduzir o potencial de inóculo primário, recomenda-se o tratamento químico das sementes (Ribeiro, 1996). Deve-se enfatizar que o tratamento de sementes é a última alternativa para obtenção de sementes “livres” de patógenos; deve-se sempre considerar a possibilidade da produção de sementes sadias através do manejo do campo de produção, beneficiamento visando a eliminação de sementes portadoras de patógenos, armazenamento sob condições adequadas e seleção dos melhores lotes após análise de amostras representativas (Menten, 1991a).

O tratamento químico de sementes apresenta como vantagens ser econômico, de fácil execução e seguro ao homem e ambiente (Soave & Moraes, 1987). Segundo Taylor & Harman (1990), devido a pequena quantidade de produtos adicionados às sementes e estes estarem em contato direto com o sítio alvo, é um método pouco prejudicial ao ambiente, quando comparado aos sistemas convencionais de tratamento de doença via aérea. Muitos autores consideram o tratamento químico de sementes como uma das medidas mais eficientes no controle de microrganismos transportados e/ou transmitidos

pelas mesmas, porque além de eliminar ou reduzir o inóculo do patógeno na semente, pode impedir a entrada de patógenos em áreas isentas, propiciar emergência uniforme de plantas, proteger as sementes e plântulas contra microrganismos presentes no solo, além de evitar a necessidade de ressemeadura, com conseqüente economia de sementes.

O tratamento de sementes, eliminando os patógenos por elas transportados, ou protegendo-as contra a ação de patógenos do ambiente (solo ou armazenamento), tem grande importância no desenvolvimento de plantas vigorosas e sadias. Além disso, o emprego de produtos sistêmicos que são translocados para a parte aérea das plantas provenientes de sementes tratadas, pode controlar os patógenos foliares nas fases iniciais de desenvolvimento da cultura e que muito interferem na produtividade (Menten, 1996).

Nenhum fungicida ou método usado em tratamento de sementes fornece proteção universal contra doenças das sementes e plântulas, devendo fazer parte de um sistema de manejo integrado (Phipps, 1984). As sementes tratadas podem reduzir a transmissão de patógenos da semente para a parte aérea das plantas; quanto maior for a eficiência do tratamento, menor será o desenvolvimento de epidemias. Este efeito é tão importante que aumentos na emergência, são, em geral, um objetivo secundário no tratamento de sementes (Menten, 1991a).

O tratamento de sementes de soja com fungicidas, que representa menos de 5% do custo total de produção, vem sendo empregado por um número cada vez maior de produtores para garantir populações adequadas de plantas, quando as condições durante a semeadura são adversas, ou seja: semeadura com baixa disponibilidade hídrica ou baixa temperatura e/ou teor de umidade e quando a semente não apresenta boa qualidade (Henning, 1994). No Brasil Central, onde o cultivo de grandes áreas representa riscos altos por problemas de emergência, principalmente se ocorrer seca após a semeadura de soja, o tratamento de sementes é considerado uma tecnologia bem difundida. Na safra brasileira de 1991/92, apenas cerca de 5 % da área de soja era semeada com sementes tratadas; entretanto, na safra 1995/96, esse índice se elevou para 54 % da área total (Henning, 1996).

O tratamento de sementes de soja pode reduzir a quantidade de fungos na semente e aumentar a emergência de sementes de baixa qualidade (germinação abaixo de 70 % e alta incidência de patógenos na semente) (Fenne & White, 1950), mas tem pouco ou nenhum efeito sobre sementes com alta qualidade (germinação acima de 70 % e baixa incidência de organismos patogênicos) (Fenne, 1949).

De acordo com Wall et al. (1983), o tratamento químico de sementes de soja pode aumentar a emergência e o “stand” de plantas, mas um aumento de produção a níveis significativos é raramente registrado, devido a grande capacidade de compensação da soja quando a população de plantas é baixa. Segundo esses autores, apesar do aumento de produção não ser um incentivo para tratamento de sementes de soja, há boas razões agronômicas para assegurar um “stand” uniforme de plântulas, o que facilita o manejo da cultura. Henning et al. (1991c) verificaram que o tratamento de sementes de soja com fungicidas, além de promover aumento na altura das plantas, proporcionou acréscimos significativos na população final e no rendimento da cultura.

Com o surgimento do cancro da haste no Estado do Paraná e a sua rápida disseminação para as principais regiões produtoras de soja do país, evidenciou-se a necessidade do tratamento de sementes de soja, como uma prática fundamental para impedir a disseminação desse e de outros patógenos (EMBRAPA, 1994). Segundo Henning et al. (1991c), o surgimento de novas doenças e o lançamento de novos produtos tornaram necessários testes de novos ingredientes ativos e a reavaliação dos fungicidas recomendados.

Segundo Lasca (1986), os fungicidas usados no tratamento de sementes não diferem dos aplicados na parte aérea, quanto aos grupos químicos a que pertencem (ditiocarbamatos, quinônicos, heterocíclicos, aromáticos, triazóis, benzimidazóis, etc.) e ao modo de ação (protetores, erradicantes, sistêmicos e antibióticos).

A recomendação de fungicidas para o controle de fitopatógenos é um processo que deve passar pela avaliação dos mesmos *in vitro*, sendo o resultado muito útil para estimar o comportamento de determinados patógenos, quando submetidos à ação de diferentes produtos fungitóxicos em condições de campo (Bollen & Fucks, 1970 e

Edgington et al., 1971). Segundo esses autores, a avaliação da fungitoxicidade *in vitro* tem sido utilizada com bastante frequência, sendo que produtos com ED₅₀ menor que 1 ppm têm sido classificados como altamente eficientes. De acordo com Edgington et al. (1971), apesar das restrições impostas à avaliação do desenvolvimento fúngico através do crescimento linear sobre meio de cultura, este é um dos métodos mais comumente empregados para este tipo de estudo, por ser menos trabalhoso. O autor recomenda, nos casos em que a ED₅₀ for menor que 1 ppm, a instalação de testes adicionais usando concentrações menores. Resultados de estudos de controle químico *in vitro* foram obtidos por Almeida & Yamashita (1977), que verificaram alta inibição do crescimento micelial de *P. sojae* na presença de tiofanato metílico e benomyl, não tendo sido possível observar diferenças estatísticas entre as doses de 1, 10 e 100 ppm de benomyl.

Costamilan & Picinini (1996), estudando o controle de *P. sojae* e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, observaram que thiabendazole foi o fungicida mais eficaz, zerando o crescimento de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* a partir de 1 ppm e de *P. sojae* a partir de 5 ppm. Thiram foi o segundo em eficácia, seguindo-se o quintozene e o captan; estes fungicidas causaram redução progressiva no crescimento de ambas as espécies em função do aumento da concentração, porém sem zerarem o crescimento a 50 ppm. Os autores observaram que a 50 ppm de thiram, quintozene e captan houve maior porcentagem de controle do crescimento micelial de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* do que de *P. sojae*.

Os produtos captan, thiram e benomyl, nas doses de 0,80, 1,65 e 1,65 g de i.a./100 kg de sementes, respectivamente, foram usados no tratamento de amostras de sementes de soja com alta incidência de patógenos e baixa porcentagem de germinação. As sementes tratadas com fungicidas apresentaram maiores germinação *in vitro* e emergência em vermiculita e solo, quando comparadas com a testemunha não tratada. Os fungicidas captan e thiram foram efetivos contra fungos localizados no tegumento das sementes, já que não penetram no embrião, ao contrário do benomyl, que transloca até o embrião. Resultados desse trabalho mostraram que *D. phaseolorum* var. *sojae* coloniza o

tegumento das sementes primariamente, sendo que os três fungicidas testados foram eficientes na redução da incidência desse fungo na semente (Ellis et al., 1975).

Wall et al. (1983) verificaram que os fungicidas captan e carboxin + thiram foram igualmente efetivos em aumentar a emergência, em laboratório e campo, de amostras de sementes com mais de 15 % de incidência de *Phomopsis* spp. Constataram também aumento na produtividade em áreas originadas de sementes com incidência de 50 % de *Phomopsis* spp., o que concorda com outros autores que afirmam que respostas de rendimento ao tratamento químico de sementes ocorre somente quando o “stand” de plantas é severamente reduzido.

Furlan & Menten (1986) encontraram eficiência dos produtos thiram, benomyl, thiabendazole, guazatine + imazalil e iprodione + thiram para o controle de *Phomopsis* sp. em sementes de soja. Utiamada et al. (1995) também verificaram a eficiência de benomyl (50 g/100 kg de sementes), que promoveu a erradicação de *P. sojae* em sementes com 5,5 % de incidência.

Lasca et al. (1987) constataram que os fungicidas benomyl, thiabendazole, thiram, carboxin + thiram, carbendazin + thiram, iprodione + thiram e captafol + PCNB controlaram *P. sojae* nas sementes e elevaram a emergência em condições de campo, sendo que em casa de vegetação apenas as misturas elevaram significativamente a emergência.

De acordo com Yorinori (1990), o produto captan fornece um controle deficiente de *Phomopsis* spp.; thiram e carboxin + thiram, controle regular; já controle muito bom é obtido com os produtos thiabendazole, thiabendazole + thiram e thiabendazole + PCNB.

Henning et al. (1991a) conseguiram erradicar *Phomopsis* spp. em sementes de soja utilizando os produtos thiabendazole, benomyl e tiofanato metílico.

Dentre os produtos testados e recomendados para o tratamento de sementes de soja, apenas thiabendazole foi eficiente no controle de *Phomopsis* spp., podendo assim ser considerado opção para o controle do agente causal do cancro da haste em sementes. Os fungicidas tradicionais conhecidos e que apresentaram bom desempenho no campo,

quanto à emergência, não controlaram totalmente *Phomopsis* spp. Tais produtos devem, portanto, ser misturados com thiabendazole para o controle do agente causal do cancro da haste nas sementes e para proporcionar boa emergência no campo (EMBRAPA, 1994). As misturas benomyl + captan (30 + 90 g i.a./100 kg de sementes); benomyl + thiram (30 + 70 g); carbendazin + thiram (30 + 70 g); thiabendazole + captan (15 + 90 g); thiabendazole + PCNB (15 + 112,5 g); thiabendazole + thiram (17 + 70 g) e thiabendazole + tolylfluanid (15 + 50 g) fornecem um controle muito bom de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, enquanto carboxin + thiram (75 + 75 g) fornece um controle bom (EMBRAPA, 1996).

O problema no tratamento de sementes refere-se à possibilidade de surgimento de linhagens de patógenos resistentes ou insensíveis aos fungicidas. Isto deve ocorrer principalmente com produtos de ação específica, principalmente os sistêmicos. Assim, recomenda-se a utilização de misturas de produtos com diferentes espectros/mecanismos de ação ou a alternância destes produtos (Menten, 1996). Atualmente, o tratamento de sementes com misturas de fungicidas de contato (thiram, captan e tolylfluanid) com sistêmicos (thiabendazole, benomyl ou carbendazin), além de proteger as sementes contra fungos do solo, têm resultado em um excelente controle de fitopatógenos transmitidos pelas sementes (Henning, 1996).

Picinini & Fernandes (1996) obtiveram erradicação de *Phomopsis* spp. em sementes de soja altamente infectadas utilizando os fungicidas carboxin + thiram, carbendazin, thiabendazole e thiabendazole em mistura com captan, thiram e PCNB.

Minussi & Belle (1981) não obtiveram efeito do tratamento de sementes com os fungicidas benomyl, captan, PCNB e Wk 47675 sobre a germinação e o vigor de sementes de alta qualidade. Estudos realizados por Backman et al. (1985), indicam que o tratamento químico de sementes pode reduzir drasticamente a incidência do cancro da haste, mas não eliminar. Segundo os autores, os produtos carboxin + thiram e carboxin + thiram + captan foram eficientes no controle de *D. phaseolorum* var. *caulivora* em sementes.

Fuzaro et al. (1996) compararam os fungicidas thiabendazole (20 g i.a./100 kg de sementes), fludioxonil (2,5 e 5 g i.a./100 kg) e difenoconazole (2,5 g e 5 g i.a./100 kg) no tratamento de sementes de soja, concluindo que todos os tratamentos foram eficientes no controle de *Phomopsis* spp. através do teste de sanidade. No teste de germinação em rolo de papel, os tratamentos não diferiram da testemunha. A emergência, sobrevivência e velocidade de emergência mostraram que todos os fungicidas foram superiores à testemunha, exceto fludioxonil na dosagem de 5 g de i.a./100 kg).

Sementes de soja naturalmente infectadas com *Phomopsis* sp., *Cercospora* sp. e *Colletotrichum dematium* foram utilizadas para avaliar e selecionar a metodologia mais eficiente para detecção desses fungos em sementes tratadas ou não com benomyl e thiabendazole na dose de 50 e 20 g/100 kg de sementes, respectivamente. Após o tratamento, avaliou-se a incidência dos mesmos nas sementes, através dos métodos do papel de filtro, papel de filtro com congelamento e plaqueamento em ágar, nas temperaturas de 20 e 24 °C, em períodos de incubação de 7, 9 e 13 dias. Os métodos do papel de filtro com e sem congelamento a 20 °C, com período de incubação de 9 e 13 dias, foram os mais eficientes para a detecção de *Phomopsis* sp. Os fungicidas utilizados controlaram eficientemente *Phomopsis* sp. e *Cercospora* sp. em quase todos os métodos, exceção para o método de plaqueamento em ágar, no qual o *Phomopsis* sp. foi detectado em baixos índices (Vechiato et al., 1995).

Almeida et al. (1997) avaliaram 4 amostras de sementes de soja de um mesmo lote, infectadas com *Phomopsis* spp. pelo método de papel de filtro, incubadas durante 7, 10, 13 e 15 dias, sendo mantida apenas uma amostra para a reavaliação nos dias determinados, descartando as demais após avaliadas. Concluíram que a avaliação aos 7 dias foi suficiente para a detecção de *Phomopsis* spp. em sementes de soja.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos nos laboratórios e casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) - USP, em Piracicaba - SP., no período de julho de 1995 a outubro de 1996.

Nos testes foram utilizados 4 isolados de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* (agente causal do cancro da haste) e 4 isolados de *P. sojae* (agente causal da queima e seca da haste e da vagem). Os isolados foram cedidos pelos pesquisadores Dr. José Tadashi Yorinori e Dr. Ademir Henning, ambos da EMBRAPA/CNPSo. A designação e procedência de cada isolado estão representadas na Tabela 1.

Tabela 1. Designação e procedência dos isolados de *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* (Ppfsm) e *P. sojae* (Ps) de sementes de soja.

Fungo	Isolado	Região	Cultivar
Ppfsm	C1	Itajaí (GO)	EMGOPA 309
	C2	Luziânia (GO)	EMGOPA 306
	C3	Balsa(MA)	FT-Cristalina
	C4	Santa Cruz de la Sierra (Bolívia)	Desconhecida
Ps	Q1	Panambi (RS)	Bragg
	Q2	Rolândia(PR)	Desconhecida
	Q3	Ourizona(PR)	Bragg
	Q4	Desconhecida	Desconhecida

Os isolados foram repicados para meio de batata-dextrose-agar (BDA), contido em tubos de vidro, sendo preservados sob óleo mineral e também em água, pelo método de Castellani (Piccinin & Pascholati, 1996).

3.1. Fungitoxicidade *in vitro*

O teste de fungitoxicidade *in vitro* foi realizado visando obter informações preliminares para posterior utilização *in vivo*. A avaliação da fungitoxicidade *in vitro* foi realizada utilizando um isolado de cada vez, na presença de todos os produtos químicos comparados.

Para a produção do inóculo, discos de micélio de cada isolado foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo meio de BDA; utilizou-se BDA da marca Oxoid. Em seguida, as placas foram colocadas em câmara de incubação sob temperatura de 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz, fornecida por lâmpadas fluorescentes próximo ao ultra-violeta “NUV”, dispostas a uma distância de 40 cm das placas e mantidas até o crescimento fúngico tomar toda a placa (5 a 9 dias). Colônias melhor desenvolvidas, com características típicas, foram utilizadas para os testes.

Para o preparo do meio de cultura com fungicida, cada produto foi adicionado ao meio de cultura BDA, segundo técnica de Edgington et al. (1971) modificada (Menten et al., 1976). Cada produto utilizado foi dissolvido em 5 ml de acetona durante 5 minutos, adicionando-se em seguida 95 ml de água destilada esterilizada, obtendo-se assim uma suspensão I, com volume de 100 ml. A partir dessa suspensão I foi feita uma diluição em série, ou seja, retirou-se 10 ml transferindo-se para 90 ml de água destilada esterilizada, obtendo uma suspensão II, da qual também se retirou 10 ml, transferindo-se para 90 ml de água esterilizada, obtendo-se uma suspensão III. Destas suspensões (I, II e III) retirou-se uma alíquota de 1,0 ml e transferiu-se para 100 ml de meio BDA fundente ($45 - 47$ °C), obtendo-se concentrações de 1, 10 e 100 ppm, respectivamente.

Discos de micélio de 5 mm de diâmetro, em crescimento ativo em BDA, com aproximadamente 7 dias de idade, foram transferidos para o centro das placas de Petri com BDA e fungicidas. As testemunhas consistiram de discos de micélio colocados apenas em meio BDA sem fungicida. A incubação ocorreu sob temperatura de 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz fluorescente tipo “NUV”.

Tabela 2. Fungicidas comparados quanto a eficiência *in vitro* para controle de *Phomopsis phaseoli* f. *sp. meridionalis* e *P. sojae* isolados de sementes de soja.

Nome técnico	Produto comercial	Grupo químico	Classe	Formulação ¹	Concentração do i.a. (g/kg ou g/l)
benomyl	Benlate 500	benzimidazol	sistêmico	PM	500
captan	Captan 750 TS	ftalimida	contato	PS	750
carbendazin	Derosal 500 SC	benzimidazol	sistêmico	SC	500
carboxin + thiram	Vitavax-Thiram PM Uniroyal	anilida + ditiocarbamato	sistêmico + contato	PM	375 + 375
difenoconazole	Spectro	triazol	sistêmico	SC	150
iprodione	Rovral	hidantoína	sistêmico	PM	500
mancozeb	Manzate 800	ditiocarbamato	contato	PM	800
procimidone	Sumilex 500 PM	ditiocarboximida	sistêmico	PM	500
quintozene	Terraclor 750 PM BR Uniroyal	nitrobenzeno	contato	PM	750
thiabendazole	Tecto 100	benzimidazol	sistêmico	PS	100
thiram	Rhodiauram 700	ditiocarbamato	contato	PS	700
tolylfluanid	Euparen M 500 PM	sulfamida	contato	PM	500
triadimenol	Baytan 250	triazol	sistêmico	PS	250
vinclozolin	Ronilan 500	dicarboximida	contato	PM	500

¹ PM = pó molhável.

PS = pó seco.

SC = suspensão concentrada.

Cada tratamento constou de 5 repetições, sendo cada uma representada por uma placa. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado para este experimento.

A avaliação foi realizada quando o crescimento do fungo no tratamento testemunha atingiu o diâmetro total da maioria das placas de Petri, o que levou aproximadamente 7 dias, variando conforme o isolado. Com o auxílio de uma régua, mediu-se em 2 sentidos perpendiculares entre si, o diâmetro da colônia em cada placa de Petri, com os respectivos produtos e doses, comparando-os com o crescimento médio das testemunhas. Assim, determinou-se o valor da percentagem de inibição do crescimento micelial (P.I.C.) (Menten et al., 1976):

$$PIC = \frac{\text{crescimento da testemunha} - \text{crescimento do tratamento}}{\text{crescimento da testemunha}} \times 100$$

Correlacionando o P.I.C. com o logaritmo da concentração do fungicida foi obtido, graficamente, o valor aproximado de ED₅₀, ou seja, a concentração do produto químico necessária para inibir em 50 % o crescimento micelial do fungo (Edgington et al., 1971).

Após o cálculo da ED₅₀, os produtos químicos foram classificados em 4 categorias de eficiência, segundo escala de Bollen & Fuchs (1970), Edgington et al. (1971) e Kataria & Grover (1978), onde:

- a) ED₅₀ < 1 ppm: altamente eficiente (A.E.).
- b) ED₅₀ 1 - 10 ppm: moderadamente eficiente (M.E.).
- c) ED₅₀ 10-50 ppm: pouco eficiente (P.E.).
- d) ED₅₀ > 50 ppm: ineficiente (I.).

Os dados foram analisados estatisticamente e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

3.2. Fungitoxicidade *in vivo*

Neste experimento utilizaram-se sementes do cultivar IAC-14, que é considerado um cultivar altamente suscetível a *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* (EMBRAPA, 1996), oriundas de Paraguaçu Paulista SP, colhidas em Fevereiro de 1996,

Para a realização deste teste foi escolhido um isolado de cada patógeno, usando-se como critério o que apresentou maior ED₅₀ para todos os produtos químicos comparados *in vitro*; ou seja, foram escolhidos os isolados C3 e Q1, considerados menos sensíveis aos fungicidas estudados.

A inoculação artificial das sementes foi realizada através do método de contato com a colônia do fungo, em procedimento semelhante ao descrito por Tanaka (1990), Arias (1995) e Santos (1995). Culturas puras dos agentes causais do cancro da haste (C3) e da queima e seca da haste e da vagem (Q1) foram obtidas em placas de Petri com meio BDA cultivado durante aproximadamente 7 dias, à 20 ± 2 °C, sob fotoperíodo de 12

horas de luz fornecida por lâmpadas fluorescentes tipo NUV, dispostas a uma distância de 40 cm das placas.

As sementes foram homogeneizadas e divididas em um divisor tipo Solo, obtendo-se uma amostra de trabalho para a realização dos testes. Primeiramente foram submetidas à assepsia superficial com hipoclorito de sódio 1 % por 1 minuto e secas à temperatura ambiente, em laboratório, por 12 horas em papel toalha “germitest”. Posteriormente foram colocadas 50 sementes em cada placa de Petri, com colônias fúngicas características e agitadas manualmente por 1 minuto, permitindo maior contato das sementes com o inóculo. As testemunhas não inoculadas foram representadas por sementes colocadas em contato apenas com BDA, de maneira análoga à anterior. As sementes foram mantidas em contato com as colônias fúngicas, em câmara de incubação, sob condições já descritas anteriormente, por 24 horas, sendo este o melhor período de contato encontrado por Arias (1995). Após, procedeu-se a secagem das sementes em papel toalha “germitest”, durante 24 horas, à temperatura ambiente, em laboratório.

As sementes inoculadas foram tratadas com os fungicidas benomyl, carbendazin, quintozene, difenoconazole e thiabendazole, que se mostraram mais eficientes no controle do crescimento micelial dos patógenos *in vitro*. A dosagem utilizada de cada produto está representada na Tabela 3.

Sub-amostras de 100 g de sementes, após inoculadas, foram colocadas em sacos plásticos de 5 litros, onde foram misturadas com os respectivos fungicidas nas doses recomendadas (Tabela 3). Adicionou-se água destilada na proporção de 0,5 % do peso das sementes, somente para os tratamentos com formulação pó molhável e suspensão concentrada. As sementes foram agitadas durante 5 minutos, para que cada produto químico aderisse homogeneamente a elas. A testemunha, para cada isolado, constou de sementes tratadas com água e sem fungicida.

Em seguida, as sementes foram mantidas durante 24 horas sobre papel toalha à temperatura ambiente, em laboratório, sendo acondicionadas em sacos de papel e armazenadas em câmara fria até sua utilização.

Sementes inoculadas, inoculadas e tratadas com os cinco fungicidas e as colocadas apenas em contato com BDA (testemunhas) foram submetidas aos testes de sanidade, germinação e emergência em solo.

Tabela 3. Fungicidas comparados quanto a eficiência *in vivo* no tratamento de sementes de soja para controle de *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* e *P. sojae*.

Produto Técnico	Produto Comercial	Formulação	Doses (g ou ml de i.a./100 kg sementes)
benomyl	Benlate 500	pó molhável	50
carbendazin	Derosal 500	susp. concentrada	50
difenoconazole	Spectro	susp. concentrada	5
quintozene	Terraclor 750	pó molhável	225
thiabendazole	Tecto 100	pó seco	20

3.2.1. Teste de sanidade

Este teste foi realizado segundo o método de papel de filtro (Neergaard, 1979), que constitui na incubação das sementes em placas de Petri, de 9 cm de diâmetro, contendo 3 folhas de papel de filtro, umedecidas com água destilada. As placas, contendo 10 sementes equidistantes entre si, foram mantidas durante 7 dias a 20 ± 2 °C, fotoperíodo de 12 horas de luz, sendo a luz fornecida por lâmpadas fluorescentes tipo NUV, dispostas a uma distância de 40 cm acima das placas.

A avaliação foi realizada aos 7, 10 e 13 dias após a incubação, através de observações das estruturas dos fungos nas sementes, sob microscópio estereoscópico ou através do microscópio composto.

O delineamento estatístico empregado foi inteiramente casualizado, com 7 tratamentos para cada patógeno (cinco fungicidas, uma testemunha inoculada e uma testemunha não inoculada). Cada tratamento foi composto por quatro repetições de 50 sementes (200 sementes/tratamento). Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3.2.2. Teste de germinação

Este teste foi realizado seguindo as Regras para Análise de Sementes - R.A.S. (Brasil, 1992).

Para a realização do teste, utilizou-se como substrato papel de germinação do tipo “germitest” umedecido com água, na proporção de 2,75 vezes o seu peso. Os rolos foram mantidos em germinador do tipo Mangelsdorf, em temperatura de 27 °C.

As avaliações foram realizadas no 5 e 8 dias após a instalação do experimento. A porcentagem média da germinação de cada tratamento, para cada patógeno, foi obtida somando-se o número de plântulas normais de cada repetição, seguido da transformação para porcentagem.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições de 50 sementes para cada patógeno. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, comparando-se as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

3.2.3. Teste de emergência em solo

A emergência foi determinada através da semeadura em caixas plásticas de 45 x 30 x 11 cm contendo solo esterilizado (constituído pela mistura de esterco de curral, areia e solo, na proporção de 1,5: 1,0: 3,0, respectivamente). Em cada caixa foram colocadas 50 sementes, distribuídas de forma eqüidistantes, mantidas em casa de vegetação, sob condições ambientais.

A avaliação foi realizada 14 dias após a semeadura, através da contagem do número de plântulas que emergiram e do cálculo da porcentagem de emergência.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente ao acaso, com 3 repetições de 50 sementes por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Fungitoxicidade *in vitro*

Os resultados obtidos encontram-se nas Tabelas 4 e 5, Figuras 1, 2 e 3 e nos Apêndices 1 a 8.

De uma maneira geral, pode-se observar que, para todos os isolados de *Phomopsis*, tanto os causadores da queima como os do cancro, os fungicidas que proporcionaram maior inibição do crescimento micelial foram benomyl, carbendazin, difenoconazole e thiabendazole. Esses produtos foram classificados como altamente eficientes (ED₅₀ menor que 1 ppm) em quase todos os casos, sendo única exceção o thiabendazole, que foi classificado como moderadamente eficiente contra o isolado Q1. Estes produtos foram comparados através dos testes *in vivo*; além destes, incluiu-se o quintozene que se destacou, através da análise estatística, dos demais produtos.

O teste estatístico ao nível de 5 % de probabilidade, apresentou resultado significativo para a interação isolados versus fungicidas, o que impede de ser realizada a análise através da média dos resultados, sendo necessário considerar um isolado de cada vez para todos os produtos testados. Os produtos comportaram-se diferentemente, dependendo do isolado, demonstrando haver variação de sensibilidade a nível de isolados. Apesar da variação, o quintozene foi o único produto a figurar entre os melhores para todos os isolados testados. Para o agente causal do cancro, esse produto foi considerado como altamente eficiente para três isolados e moderadamente eficiente para um, e para todos os isolados do agente causal da queima apresentou-se como moderadamente eficiente (Apêndices 1 a 8).

Tabela 4. Concentração (ppm) de fungicida necessária para inibir em 50 % (ED₅₀)¹ o crescimento micelial de quatro isolados de *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* (C1, C2, C3 e C4). Piracicaba, 1996.

Produtos	C1	C2	C3	C4	Média
benomyl*	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
captan	11,16 b	16,41 a	2,94 cd	3,54 bc	8,51
carbendazin*	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
carboxin + thiram	5,01 cd	8,18 bcd	8,27 b	5,90 b	6,84
difenoconazole*	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
iprodione	0,27 e	4,28 de	22,79 a	4,59 bc	7,98
mancozeb	5,09 c	6,34 cd	7,33 bc	6,81 b	6,39
procimidone	0,01 e	4,50 de	1,16 d	1,14 c	1,70
quintozene	0,54 de	0,01 e	0,58 d	3,60 bc	1,18
thiabendazole*	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
thiram	0,01 e	11,09 b	4,76 bcd	3,94 bc	4,95
tolyfluanid	3,54 cde	1,47 e	6,64 bc	2,90 bc	3,64
triadimenol	19,66 a	9,25 bc	9,05 b	15,94 a	13,48
vinclozolin	6,14 c	11,14 b	6,69 bc	4,21 bc	7,05
Média	5,14	7,27	7,02	5,26	6,17

CV (%) = 36,13

¹ Média de 5 repetições. As médias seguidas por letras iguais nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

* Excluídos da análise de variância e do cálculo da média.

Os produtos considerados como moderadamente eficientes (ED₅₀ = 1 - 10 ppm) para os 4 isolados do agente causal do cancro foram carboxin+ thiram, mancozeb e tolylfluanid (Tabela 4) e para os 4 isolados do agente causal da queima foram quintozene e triadimenol (Tabela 5).

O único produto considerado pouco eficiente (ED₅₀ = 10 - 50 ppm) para os isolados do agente causal da queima foi o captan (Tabela 5); para os isolados do cancro, não houve nenhum produto que se comportou como pouco eficiente, para os 4 isolados ao mesmo tempo (Tabela 4).

Nenhum produto foi considerado ineficiente (ED₅₀ > 50 ppm) para todos os isolados de ambos os patógenos. Entretanto, observando os isolados individualmente, verifica-se uma grande variação de sensibilidade aos produtos, havendo representantes em cada uma das 4 categorias de classificação de eficiência dos fungicidas.

Tabela 5. Concentração (ppm) de fungicida necessária para inibir em 50 % (ED₅₀)¹ o crescimento micelial de quatro isolados de *Phomopsis sojae* (Q1, Q2, Q3 e Q4). Piracicaba, 1996.

Produtos	Q1	Q2	Q3	Q4	Média
benomyl*	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
captan	43,71 b	10,75 b	35,81 a	13,55 c	25,96
carbendazin*	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
carboxin + thiram	16,39 c	12,02 ab	0,05 d	10,98 cd	9,86
difenoconazole*	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
iprodione	6,64 def	2,05 c	6,95 bcd	0,02 e	3,92
mancozeb	63,78 a	19,26 a	8,82 bc	76,59 a	42,11
procimidone	18,30 c	4,93 bc	10,81 b	2,04 e	9,02
quintozene	3,19 f	3,17 c	4,10 bcd	5,33 de	3,95
thiabendazole*	2,90	< 1	< 1	< 1	< 1
thiram	13,74 cd	10,62 b	10,00 bc	5,09 de	9,86
tolyfluanid	46,37 b	18,58 a	8,61 bc	20,88 b	23,61
triadimenol	6,30 ef	3,15 c	1,13 d	1,24 e	2,96
vinclozolin	11,77 cde	6,42 bc	2,87 cd	15,48 bc	9,14
Média	23,31	9,09	8,92	15,12	14,11

CV (%) = 25,74

¹ Média de 5 repetições. As médias seguidas por letras iguais nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

* Excluídas da análise de variância e do cálculo da média.

Este teste demonstrou que os produtos sistêmicos foram os mais eficientes; sendo que o quintozene foi o único produto de contato a figurar entre os melhores.

Considerando-se a média da ED₅₀ de todos os fungicidas comparados, destacam-se variações de sensibilidade entre os isolados. Para os isolados de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, C1 e C4 foram mais sensíveis que C3 e C2 (Tabela 4). No caso dos isolados de *P. sojae*, observa-se que os isolados Q3 e Q2 foram mais sensíveis, seguidos por Q4 e Q1 (Tabela 5), sendo este último o mais resistente de todos. Isto demonstra que na natureza existem isolados com diferentes sensibilidades aos fungicidas, o que está de acordo com Roman (1995), o qual estudando o comportamento de isolados originários de diferentes regiões, constatou por meio de análise de proteínas, a variação de *D. phaseolorum* f. sp. *meridionalis*.

Figura 1. Sensibilidade *in vitro* de *Phomopsis sojae*, isolado Q4 (Foto 1), e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, isolado C2 (Foto 2), a vários fungicidas, na concentração de 1 ppm.

A. testemunha	I. carbendazin
B. triadimenol	J. tolylfluand
C. benomyl	K. mancozeb
D. captan	L. quintozene
E. carboxin + thiram	M. iprodione
F. thiabendazole	N. vinclozolin
G. procimidone	O. thiram
H. difenoconazole	

Figura 2. Sensibilidade *in vitro* de *Phomopsis sojae*, isolado Q4 (Foto 1), e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, isolado C2 (Foto 2), a vários fungicidas, na concentração de 10 ppm.

A. testemunha	I. carbendazin
B. triadimenol	J. tolylfluanid
C. benomyl	K. mancozeb
D. captan	L. quintozone
E. carboxin + thiram	M. iprodione
F. thiabendazole	N. vinclozolin
G. procimidone	O. thiram
H. difenoconazole	

Figura 03. Sensibilidade *in vitro* de *Phomopsis sojae*, isolado Q4 (Foto 1), e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, isolado C2 (Foto 2), a vários fungicidas, na concentração de 100 ppm.

A. testemunha	I. carbendazin
B. triadimenol	J. tolylfluanid
C. benomyl	K. mancozeb
D. captan	L. quintozone
E. carboxin + thiram	M. iprodione
F. thiabendazole	N. vinclozolin
G. procimidone	O. thiram
H. difenoconazole	

Um aspecto importante e útil, decorrente dos resultados obtidos nesse trabalho e que deve ser considerado, é que, pelo fato dos isolados de *P. sojae* serem menos sensíveis aos fungicidas e também na dificuldade de se diferenciar morfológicamente este patógeno do *P. phaseoli* f sp. *meridionalis* em testes rotineiros de patologia de sementes, o controle de *P. sojae* nas sementes implicaria também no controle de *P. phaseoli* f sp. *meridionalis*, que é muito mais importante que *P. sojae*. Esta informação dá tranquilidade e segurança com relação a eficiência dos fungicidas recomendados atualmente no controle de *P. sojae*. Outra diferença observada entre os patógenos, foi a maior taxa de crescimento micelial dos isolados de *P. sojae* em BDA, em relação aos isolados de *P. phaseoli* f sp. *meridionalis*.

Os fungicidas que tiveram sua eficiência expressa por $ED_{50} < 1$ ppm poderiam ter um valor determinado se fosse realizado outro experimento *in vitro* com concentrações dos produtos de 0,01, 0,1 e 1 ppm, como recomendado por Edgington et al. (1971). Entretanto, a finalidade deste experimento, foi realizar uma seleção preliminar dos fungicidas para posterior ensaio *in vivo* e o resultado obtido foi considerado suficiente.

Os resultados obtidos neste teste de fungitoxicidade *in vitro* estão de acordo com os observados por Almeida & Yamashita (1977), que verificaram alta inibição do crescimento micelial de *P. sojae* utilizando o benomyl, sendo que não foram observadas diferenças entre as doses de 1, 10 e 100 ppm do produto, isto é, na concentração baixa este fungicida já é eficiente.

A eficiência do thiabendazole também foi observada por Costamilan & Picinini (1996), segundo os quais este fungicida foi o mais eficaz, inibindo totalmente o crescimento de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* a partir de 1 ppm e de *P. sojae* a partir de 5 ppm, seguido do thiram, quitozene e captan. Estes fungicidas causaram redução progressiva no crescimento de ambas as espécies em função do aumento da concentração, porém sem inibir completamente o crescimento a 50 ppm, fato esse não ocorrido nem com a concentração de 100 ppm neste experimento para todos os isolados de *P. sojae*; porém, para a maioria dos isolados de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*,

zeraram o crescimento. Esses autores observaram que, utilizando 50 ppm desses três últimos produtos, houve maior porcentagem de controle do crescimento micelial de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* do que de *P. sojae*. Resultado semelhante foi obtido neste trabalho, uma vez que, a maioria dos isolados de *P. sojae* apresentaram-se menos sensíveis aos produtos testados do que os isolados de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, com exceção do produto triadimenol, para o qual os isolados de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* foram menos sensíveis. Contrariamente a esses autores, foi verificada a superioridade do quintozene em relação ao thiram, entretanto ambos os produtos não foram considerados altamente eficientes para todos os isolados, no presente trabalho.

Em função dos resultados obtidos *in vitro*, foram escolhidos os produtos benomyl, carbendazin, difenoconazole, quintozene e thiabendazole para a realização dos experimentos *in vivo*. Utilizaram-se, nos testes *in vivo*, os isolados C3 e Q1, considerados os menos sensíveis a todos os produtos químicos testados, ou seja, com ED₅₀ maior. O isolado C3, apesar de ter mostrado uma ED₅₀ total ligeiramente menor que o do isolado C2, foi escolhido para ser usado nos testes *in vivo* por ter apresentado características mais típicas em meio de cultura.

4.2. Fungitoxicidade *in vivo*

4.2.1. Teste de sanidade

Os resultados do teste de sanidade de sementes não inoculadas e inoculadas com *P. sojae* e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, e tratadas ou não com os fungicidas encontram-se nas Tabelas 6 e 7 e no Apêndice 9.

Observa-se nas Tabelas 6 e 7, que a avaliação da incidência de ambos os patógenos nas sementes aos 7 dias, após a instalação do teste de sanidade, embora tenha permitido distinguir os tratamentos, subestimou a incidência, já que os fungos demoraram para formar corpos de frutificação (picnídios) e a avaliação através do micélio deixa dúvidas. O melhor período de incubação foi a partir dos 10 dias, considerando-se também, além dos picnídios, o micélio característico dos patógenos, já

que este anotado em algumas sementes, por ocasião da primeira avaliação, formaram picnídios nessa segunda. Além disso, esse período de incubação não apresentou diferença estatística quando comparado com o período de 13 dias, nos dois parâmetros avaliados, para ambos patógenos (Apêndice 9).

Na segunda avaliação também pôde-se notar uma elevação na porcentagem de incidência dos dois patógenos em todos os tratamentos. Observou-se, aos 13 dias, que a avaliação somente dos picnídios, também pode subestimar a porcentagem de incidência dos patógenos nas sementes, permanecendo ainda micélios típicos sem formação de corpos de frutificação.

Tabela 6. Incidência¹ de *Phomopsis sojae* em sementes de soja não inoculadas ou inoculadas artificialmente e submetidas ou não ao tratamento com fungicidas, avaliadas pelo método do papel de filtro, após diferentes períodos de incubação. Piracicaba, 1996.

Tratamentos (g i.a./100 kg sementes)	7 dias		10 dias		13 dias	
	picnídio ²	pic + mi ³	picnídios	pic + mi	picnídios	pic + mi
benomyl, 50	0 c	0 c	0 d	1,5 c	0 d	1,5 c
carbendazin, 50	0 c	0 c	0 d	11,5 c	0 d	11,5 c
difenoconazole, 5	7,5 b	31,0 b	12,5 c	49,5 b	16,5 c	49,5 b
quintozene, 225	8,0 b	8,0 c	36,0 b	61,5 b	41,0 b	61,5 b
thiabendazole, 20	0 c	0 c	2,5 d	12,5 c	2,5 d	12,5 c
testemunha não inoculada ⁴	4,5 b c	4,5 c	6,0 cd	7,0 c	6,0 d	8,5 c
testemunha inoculada	63,5 a	63,5 a	82,0 a	98,0 a	93,0 a	98,0 a
CV (%)	21,41	30,82	16,08	25,32	18,4	25,84

¹ Médias de 4 repetições. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5 %.

² Sementes com picnídios típicos do patógeno.

³ Estão incluídas sementes com micélio característico do patógeno, porém sem estruturas de reprodução que permitam a exata identificação.

⁴ Sementes infectadas naturalmente com *Phomopsis* spp.

As sementes utilizadas para a inoculação artificial apresentavam-se naturalmente infectadas com *Phomopsis* spp. Entretanto, a incidência encontrada foi bem baixa em relação a da testemunha inoculada. Observou-se, após a análise estatística dos dados (Apêndice 9), que o tempo de incubação afetou apenas as sementes inoculadas artificialmente para ambos os patógenos, não afetando a avaliação das sementes não

artificialmente para ambos os patógenos, não afetando a avaliação das sementes não inoculadas, permanecendo assim o período de 7 dias como eficiente para a detecção de *Phomopsis* spp., concordando com Almeida et al. (1997); contudo, Vechiato et al. (1995), utilizando o método do papel de filtro com e sem congelamento, identificou o período de 9 ou 13 dias como mais eficiente.

No presente trabalho, considerou-se o período de incubação à partir dos 10 dias como sendo o melhor para detecção de *P. sojae* e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, provavelmente pelo fato do inóculo ter perdido a capacidade de crescimento ou estar mais profundo na semente inoculada artificialmente, demorando para se exteriorizar.

Tabela 07. Incidência¹ de *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* em sementes de soja não inoculadas ou inoculadas artificialmente e submetidas ou não ao tratamento com fungicidas, avaliadas pelo método do papel de filtro, após diferentes períodos de incubação. Piracicaba, 1996.

Tratamentos (g i.a./100 kg sementes)	7 dias		10 dias		13 dias	
	picnídios ²	pic + mi ³	picnídios	pic + mi	picnídios	pic + mi
benomyl, 50	0 c	0 b	0 d	0,5 d	0 d	0,5 d
carbendazin, 50	0 c	1,0 b	0 d	7,0 d	1,0 d	7,0 d
difenoconazole, 5	7,5 b	7,5 b	15,0 b	54,0 b	24,5 b	54,0 b
quintozene, 225	3,0 bc	8,5 b	8,5 bc	24,0 c	13,0 c	24,5 c
thiabendazole, 20	0 c	1,5 b	0 d	9,0 d	0,5 d	9,5 d
testemunha não inoculada ⁴	4,5 bc	4,5 b	6,0 c d	7,0 d	6,0 cd	8,5 d
testemunha inoculada	49,0 a	55,0 a	85,5 a	98,0 a	92,0 a	98,0 a
CV (%)	31,48	49,39	18,50	19,60	22,24	20,52

¹ Médias de 4 repetições. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5 %.

² Sementes com picnídios típicos do patógeno.

³ Estão incluídas sementes com micélio característico do patógeno, porém sem estruturas de reprodução que permitam a exata identificação.

⁴ Sementes infectadas naturalmente com *Phomopsis* spp.

Analisando os resultados da avaliação da sanidade aos 13 dias de incubação (picnídios mais micélio), os produtos mais eficientes contra os dois fungos foram benomyl, carbendazin e thiabendazole e os menos eficientes foram difenoconazole e quintozene; para *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, quintozene foi mais eficiente que o difenoconazole. A eficiência do benomyl e/ou thiabendazole, verificada no teste, está de

acordo com vários trabalhos relatados na literatura (Henning, et al., 1991a; Furlan & Menten, 1986; Lasca et al., 1987; EMBRAPA, 1994; Utiamada et al., 1995 e Fuzaro et al., 1996). Picinini & Fernandes (1996) também verificaram a eficiência do carbendazin, produto que apesar de não ser citado na maioria dos trabalhos de tratamentos de sementes com esses patossistemas, pertence ao mesmo grupo químico do benomyl e do thiabendazole. Alguns desses autores verificaram a erradicação de *P. sojae* e *Phomopsis* spp. utilizando os produtos considerados eficientes, o que pode ter ocorrido devido ao baixo índice de infecção nas sementes, fato esse que não ocorreu no presente trabalho. Segundo Backman et al. (1985), o tratamento químico de sementes pode reduzir drasticamente o cancro da haste, mas não eliminar o mesmo.

Os resultados do teste de sanidade estão de acordo com os resultados obtidos nos testes *in vitro*, ou seja, benomyl, carbendazin e thiabendazole foram os melhores produtos; a exceção foi difenoconazole, o qual não apresentou o mesmo desempenho do teste *in vitro* para ambos os fungos. A menor eficiência do difenoconazole, obtida em ensaios *in vivo*, pode ter como causa a baixa dose deste produto recomendada para o tratamento de sementes de soja (Henning, comunicação pessoal)¹. Entretanto, Fuzaro et al. (1996) encontraram boa eficiência do difenoconazole no controle de *Phomopsis* spp., usando doses de 2,5 e 5 g i.a/100 kg de sementes.

4.2.2. Germinação e emergência em solo

Os resultados do teste de germinação encontram-se nas Tabelas 8 e 9.

Pode-se observar que apenas as sementes inoculadas com *P. sojae* (Tabela 8) e não tratadas, apresentaram uma redução na porcentagem de germinação, diferindo estatisticamente das sementes não inoculadas. No tocante às sementes inoculadas e tratadas, verificou-se a elevação na porcentagem de germinação em relação às sementes inoculadas com os fungos, sendo que os resultados não diferiram estatisticamente entre si.

¹ HENNING, A.A. Comunicação pessoal, 1996.

Tabela 8. Efeito do tratamento químico sobre a germinação e emergência de sementes de soja inoculadas com *Phomopsis sojae*. Piracicaba, 1996.

Tratamentos (g i.a./100 kg sementes)	% germinação ¹ (27 °C)	% emergência ² (14 dias)
benomyl, 50	77,5 ab	90,0 a
carbendazin, 50	81,0 ab	86,7 a
difenoconazole, 5	77,0 ab	82,7 a
quintozene, 225	74,5 ab	75,3 a
thiabendazole, 20	81,0 ab	82,7 a
testemunha não inoculada	82,5 a	86,7 a
testemunha inoculada	66,5 b	85,3 a
CV (%)	8,6	9,2

¹ Médias de 4 repetições.

² Médias de 3 repetições.

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5 %.

Tabela 9. Efeito do tratamento químico sobre a germinação e emergência de sementes de soja inoculadas com *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis*. Piracicaba, 1996.

Tratamentos (g i.a./100 kg sementes)	% germinação ¹ (27 °C)	% emergência ² (14 dias)
benomyl, 50	81,5 a	81,3 a
carbendazin, 50	84,0 a	78,7 a
difenoconazole, 5	80,0 a	87,3 a
quintozene, 225	75,5 a	76,0 a
thiabendazole, 20	85,0 a	85,3 a
testemunha não inoculada	82,5 a	86,7 a
testemunha inoculada	79,0 a	89,3 a
CV (%)	6,4	10,1

¹ Médias de 4 repetições.

² Médias de 3 repetições.

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5 %.

Complementando o teste de germinação, instalou-se o teste de emergência em solo (Tabelas 8 e 9), onde observou-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos. Sementes inoculadas com o fungo *Phomopsis sojae* (Tabela 8) apresentaram uma maior tendência de emergência quando tratadas com o produto benomyl, quando comparadas às sementes não inoculadas e não tratadas; entretanto, para o fungo *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, tanto esse produto como os demais não

auxiliaram na emergência. Conclui-se que ambos os fungos não afetaram a emergência em solo e que o teste de germinação pode mascarar o resultado, principalmente quando se avaliam sementes com alta incidência de *Phomopsis* sp., concordando com Henning & França Neto (1980), Patricio et al. (1991) e Goulart (1997).

Com relação ao tratamento químico, observou-se que, mesmo com a alta incidência dos patógenos, não houve diferença estatística para ambos os fungos nos testes de germinação e emergência. Sabe-se que isto deve ter ocorrido devido a boa qualidade fisiológica das sementes (germinação acima de 70%) (Fenne, 1949). Resultados semelhantes também foram obtidos por outros autores como Minussi e Belle (1981), que não observaram aumento na germinação de sementes tratadas com benomyl; Fuzaro et al. (1996), testando os fungicidas thiabendazole e difenoconazole, e Lasca et al. (1987), trabalhando com benomyl e thiabendazole, não constataram aumento na emergência em casa de vegetação. Ellis (1975), utilizando sementes de baixa qualidade e com alta incidência de *Phomopsis* sp., conseguiu diminuir a incidência e aumentar a germinação e emergência testando benomyl. Todavia, autores como Fuzaro et al. (1996) e Lasca et al. (1987) demonstraram a eficiência do benomyl no tratamento de sementes em campo. Apesar destes trabalhos estarem mais relacionados com *Phomopsis* sp., no presente trabalho, os resultados quanto ao tratamento químico das sementes foram semelhantes, para ambos os fungos testados.

Considerando os resultados obtidos neste trabalho e dados existentes na literatura, é possível sugerir o tratamento de sementes de soja, visando o controle de espécies de *Phomopsis*, com benomyl e carbendazin, na dose de 50 g ou 50 ml de i.a./100 kg de sementes, respectivamente, e o thiabendazole na dosagem de 20 g de i.a./100 kg de sementes. Ressalta-se que o benomyl foi o produto mais destacado, embora não tenha havido diferenças estatísticas significativas entre ele e os demais produtos comparados. Novos testes com doses maiores devem ser realizados com o produto difenoconazole.

Observou-se que os tratamentos utilizados não erradicaram os fungos das sementes; entretanto, em condições naturais, é difícil encontrar altos índices de sementes

infectadas por *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, como ocorreu com as sementes inoculadas nestes experimentos. Destaca-se que, como na prática não se consegue diferenciar *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* facilmente de *Phomopsis sojae*, o qual pode aparecer em grande escala, o nível de tolerância permitida é alto, variando de 35 % para sementes básicas, 40 % para sementes certificadas e 45 % para sementes fiscalizadas; até estes valores deve se efetuar tratamento químico e acima destes fazer o descarte dos lotes. Esse alto nível de tolerância permitido pode possibilitar a entrada de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* em áreas onde ele não ocorre.

Deve-se ressaltar que cuidados especiais devem ser tomados para que não haja a introdução e sobrevivência de diferentes patógenos exóticos, ou mesmo isolados ou raças mais agressivas, originados de diferentes países ou regiões, para outros ainda isentos (Kaiser, 1987). A melhor maneira de se evitar a disseminação dos patógenos pelas sementes, principalmente pela importância do *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*, é a obtenção de material sadio, através do manejo adequado do campo e da eliminação de lotes onde os patógenos forem constatados, através da análise sanitária de sementes. O tratamento de sementes deve ser um seguro adicional, considerando a probabilidade de amostras de trabalho não possibilitarem a detecção do patógeno.

Outros experimentos devem ser realizados buscando encontrar a dose ideal de cada produto, considerando-se a variação de sensibilidade de cultivares e de isolados, além das diferentes condições de temperatura e umidade durante a semeadura.

Neste trabalho, objetivou-se conhecer a eficiência dos produtos separadamente; porém, novos testes se fazem necessários com a utilização de misturas de fungicidas sistêmicos e de contato, pois essa é a tendência do tratamento químico (EMBRAPA, 1996). Neste caso, testes com os melhores produtos (todos sistêmicos) mais quintozene (contato) são recomendados. A EMBRAPA (1996) recomenda a mistura de fungicidas tradicionais, que apresentam bom desempenho em campo, quanto à emergência, mas não controlam *Phomopsis* spp., com os produtos benomyl, carbendazin ou thiabendazole, para controle do agente causal do cancro da haste e para proporcionar uma melhor emergência em campo.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos sob as condições experimentais do presente trabalho, pode-se concluir:

1) Os produtos mais eficientes ($ED_{50} < 1$ ppm) no controle *in vitro* de *Phomopsis sojae* e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* são benomyl, carbendazin, thiabendazole e difenoconazole. Os fungicidas moderadamente eficientes ($ED_{50} = 1-10$ ppm) são quintozene e triadimenol para *P. sojae*, e carboxin + thiram, mancozeb e tolylfluanid para *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis*. O único produto pouco eficiente ($ED_{50} > 10$ ppm) é o captan para *P. sojae*.

2) De um modo geral, os isolados de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* são mais sensíveis aos fungicidas testados do que os isolados de *P. sojae*.

3) Os isolados de *P. sojae* e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* comportam-se diferentemente em relação aos diferentes fungicidas.

4) Os produtos mais eficientes para o controle *in vivo* (teste de sanidade pelo método do papel de filtro) de *P. sojae* e *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* são benomyl, carbendazin e thiabendazole.

5) O tratamento químico das sementes com os produtos e doses comparadas, não proporciona aumento significativo na germinação e emergência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 3. ed. New York: Academic Press, 1988. 803p.

ALMEIDA, A.M.R.; YAMASHITA, J. Avaliação da toxidez de fungicidas sobre patógenos de soja *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, v.2, p. 211-215, 1977.

ALMEIDA, R.R.; MORAES, M.H.D.; PARISI, J. J.D.; MENTEN, J.O.M. Detecção de *Phomopsis spp* em sementes de soja pelo método do papel de filtro após diferentes períodos de incubação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 30., Poços de Caldas, 1997. Resumos. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, p. 241, ago. 1997. Suplemento.

ARIAS, S.M.S. Aspectos da detecção em sementes e controle biológico de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Lavras, 1995. 76p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras.

BACKMAN, P.A.; WEAVER, D.B.; MORGAN-JONES, G. Soybean stem canker: an emerging disease problem. **Plant Disease**, v.69, n.8, p. 641-647, 1985.

BOLLEN, G.J.; FUCKS, A. On the specificity of the *in vitro* and *in vivo* antifungal activity of benomyl. **Netherland Journal of Plant Pathology**, v.76, p. 299-313, 1970.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365p.
- COSTAMILAN, L.M.; PICININI, E.C. Controle de *Phomopsis sojae* e de *P. phaseoli* f. sp. *meridionalis* “in vitro”. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 29., Campo Grande, 1996. Resumos. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, p. 353, ago. 1996. Suplemento.
- EDGINGTON, L.V.; KHEN, K.L.; BARRON, G.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, v.61, p.42-44, 1971.
- ELLIS, M.A.; ILYAS, M.B.; SINCLAIR, J.B. Effect of three fungicides on internally seed-borne fungi and germination of soybean seeds. **Phytopathology**, v.65, p. 553-556, 1975.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil - 1994/95**. Londrina, 1994. 27p. (EMBRAPA/CNPSo. Documentos, 77).
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil - 1995/96**. Londrina, 1995. 149p. (EMBRAPA/CNPSo. Documentos, 88).

- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil - 1996/97**. Londrina, 1996. 164p. (EMBRAPA/CNPSo. Documentos, 96).
- FENNE, S.B. Alfafa and soybean diseases in Virginia. **Plant Disease Reporter**, v.33, p. 90-91, 1949.
- FENNE, S.B.; WHITE, W.C. Chemical treatment of soybean seed increased germination in laboratory tests. **Plant Disease Reporter**, v.34, p. 206-207, 1950.
- FORCELINI, C.A. Incidência, transmissão e controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. Piracicaba, 1992. 114p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- FURLAN, S.H.; MENTEN, J.O.M. Efeito do tratamento químico na sanidade e emergência de sementes de soja e algodão. **Fitopatologia Brasileira**, v.11, p. 333-334, 1986.
- FUZARO, J.B.; CASTELANI, R.F.; MORAES, M.H.D.; GONELLA, L.G.R.; PARDELA, A.L.; MENTEN, J.O.M.; LEITE, O.M.C. Eficiência de fungicidas para o tratamento de sementes de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 29., Campo Grande, 1996. Resumos. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, p. 399, ago. 1996. Suplemento.
- GARRIDO, L. da R. Cancro da haste: inóculo primário de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* e reação de plantas de soja à inoculação do patógeno. Viçosa, 1994. 73p. Dissertação (M.S.) - Universidade Federal de Viçosa.

- GOULART, A.C.P. Fungos em sementes de soja: detecção e Importância. Dourados, 1997. 58p. (EMBRAPA/CPAO. Documentos, 11).
- GOULART, A.C.P.; PAIVA, F. de A.; ANDRADE, P.J.M. Controle de fungos em sementes de soja (*Glycine max*) pelo tratamento com fungicidas. **Summa Phytopathologica**, v.21, n.3/4, p. 239-244, 1995.
- HENNING, A.A. **Patologia de sementes**. Londrina: EMBRAPA, CNPSo, 1994. 43p. (EMBRAPA/CNPSo. Documentos, 90).
- HENNING, A.A. Fungicidas recomendados para o tratamento de sementes de soja. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 4., Gramado, 1996. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1996. p. 40-43.
- HENNING, A.A.; FRANÇA NETO, J. de B. Problemas na avaliação da germinação de sementes de soja com alta incidência de *Phomopsis* sp. **Revista Brasileira de Sementes**, v.2, n.3, p. 9-22, 1980.
- HENNING, A.A.; KRYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B. Eficácia do tratamento de sementes de soja com fungicidas no controle dos principais fungos fitopatogênicos transmitidos por sementes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 7., Campo Grande, 1991. Resumos dos trabalhos técnicos. **Informativo Abrates**, v.1, n.4, p. 68, 1991a. Número especial.
- HENNING, A.A.; KRYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; YORINORI, J.T. **Tratamento de sementes de soja com fungicidas**. Londrina: EMBRAPA, CNPSo, 1991b. 4p. (EMBRAPA/CNPSo. Comunicado Técnico, 49).

- HENNING, A.A.; CATTELAN, A.J.; KRYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; COSTA, N.P.da. **Tratamento e inoculação de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA, CNPSo, 1994. 6 p. (EMBRAPA/CNPSo. Comunicado Técnico, 54).
- HENNING, A.A.; FRANÇA NETO, J.B.; KRYZANOWSKI, F.C.; MIRANDA, L.C.; VIEIRA JUNIOR, P.A.; SILVA FILHO, P.M. da; ALVES, E.R.S.; ALVARES, M.C. Efeito do tratamento de sementes com fungicidas sobre a emergência, população final, altura de plantas e rendimento da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 7., Campo Grande, 1991. Resumos dos trabalhos técnicos. **Informativo Abrates**, v.1, n.4, p. 67, 1991c. Número especial.
- ITO, M.F.; TANAKA, M.A. de S. **Soja: principais doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides**. Campinas: Fundação Cargill, 1993. 48p.
- KAISER, W.I. Plant pathology research at the western regional plant introduction station pullman, Washington, U.S.A. In: INTERNACIONAL ADVANCED COURSE ON SEED PATHOLOGY, Passo Fundo, 1987. **Seed pathology: proceedings**, edited by L.C.B.Nasser; M.M.S.Wetzel e J.M.C.Fernandes. Brasília: Abrates, 1988. p. 75-84.
- KATARIA, H.R.; GROVER, R.K. Comparison of fungicides for the control of *Rhizoctonia solani* causing damping-off of mung bean (*Phaseolus aureusi*). **Annual Applied Biology**, v.88, p. 257-263, 1978.
- LASCA, C.C. Tratamento de sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES. 2., Campinas, 1986. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p. 93-99.

- LASCA, C.C.; VALARINI, P.J.; SCHIMIDT, J.R.; VECHIATO, M.H.; CHIBA, S. Tratamento de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com fungicidas visando o controle de *Phomopsis phaseoli* (Desm.) Sacc. **Summa Phytopathologica**, v.13, n.3/4, p. 222-232, jul./dez. 1987.
- MACHADO, J.C. Controle de fitopatógenos associados a sementes. **Informe Agropecuário**, v.8, n.91, p. 34-40, 1982.
- MENTEN, J.O.M. **Patógenos em sementes**: detecção, danos e controle químico. Piracicaba: FEALQ, 1991a. p. 203-224: Importância do tratamento de sementes.
- MENTEN, J.O.M. **Patógenos em sementes**: detecção, danos e controle químico. Piracicaba: FEALQ, 1991b. p. 115-136: Prejuízos causados por patógenos associados às sementes.
- MENTEN, J.O.M. Tratamento de sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 4., Gramado, 1996. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1996. p. 3-23.
- MENTEN, J.O.M. Situação dos padrões de sanidade de sementes. IN: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 20., São Paulo, 1997. Mesa-Redonda. **Summa Phytopathologica**, v.23, n. 1, p. 86-89, 1997.
- MENTEN, J.O.M.; BUENO, J.T. Transmissão de patógenos por sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 164-191.

- MENTEN, J.O.M.; MACHADO, C.C.; MINUSSI, E.; CASTRO, C.; KIMATI, H.
Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, v.1, p. 57-66, 1976.
- MINUSSI, E.; BELLE, R.A. Efeito de fungicidas na germinação e no vigor de sementes de soja. **Fitopatologia Brasileira**, v.2, p. 151-157, 1981.
- MORGAN-JONES, G. The *Diaporthe phaseolorum* complex of soybean. **Fitopatologia Brasileira**, v. 17, p. 359-367, 1992.
- NEERGAARD, P. **Seed pathology**. 2. ed. London: Mc Millan, 1979. 1190p.
- PATRICIO, F.R.A.; BORIN, R.B.R.G.; ORTOLANI, D.B. Patógenos associados a sementes que reduzem a germinação e o vigor. In: MENTEN, J.O.M. (Ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: FEALQ, 1991. p. 137-160.
- PETERSON, J.L.; STRELECKI, R.F. The effect of variants of *Diaporthe phaseolorum* on soybean germination and growth in New Jersey. **Plant Disease Reporter**, v.49, p. 228-229, 1965.
- PHIPPS, P.M. Soybean and peanut seed treatment: new developments and needs. **Plant Disease**, v.68, n.1, p. 76-77, 1984.
- PICCININ, E.; PASCHOLATI, S. F. Crescimento, esporulação e patogenicidade de isolados de *Colletotrichum graminicola* após 14 anos de preservação pelo método de Castellani. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, p. 499-502, 1996.

- PICININI, E.C.; FERNANDES, J.M. Eficácia de fungicidas no controle de *Phomopsis* spp., *Fusarium* spp. e *Cercospora kikuchii* em sementes de soja, cultivar BR-116. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 29., Campo Grande, 1996. Resumos. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, p. 377, ago. 1996. Suplemento.
- PLOPER, L.D. The *Diaporthe/Phomopsis* diseases complex of soybean. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 4., Buenos Aires, 1989. **Proceedings**. Buenos Aires: Association Argentina de la Soya, 1989. p. 1695-1697.
- RAHALKAR, P.W.; NEERGARD, P. Studies on aureofungin as seed treatment in controlling seed borne fungal diseases. **Hindustan Antibiotics Bulletin**, v.11, n.3, p. 163-165, 1969.
- RIBEIRO, A.S. Tratamento de sementes com fungicidas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas** v. 4, p. 381-408, 1996.
- ROMAN, N.R.L. *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*: caracterização de isolados, avaliação e detecção de fontes de resistência e transmissão por semente em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Brasília, 1995. 96p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília.
- ROMAN, N.R.L.; FREITAS, M.de.; NASSER, L.C.B.; RIBEIRO, W.R.C. Importância da transmissão de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* pela semente de soja (*Glycine max*) na região dos cerrados In: SIMPÓSIO SOBRE CERRADO, 8.; INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL SAVANNAS, 1., Brasília, 1996. **Biodiversidade e produção sustentável de alimento e fibras nos cerrados: anais**. Planaltina: EMBRAPA, CPAC, 1996. p. 308-310.

- RUPE, J.C. Epidemiology of the *Diaporthe/Phomopsis* complex. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 4., Buenos Aires, 1989. **Proceedings**. Buenos Aires: Association Argentina de la Soya, 1989. p. 1712-1717.
- SANTOS, A.C.da. *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro: detecção, inoculação artificial e controle químico. Piracicaba, 1995. 70p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- SINCLAIR, J.B. Fungicides sprays for the control of seedborne pathogens of rice, soybean and wheat. **Seed & Technology**, v.9, p. 697-705, 1981.
- SINCLAIR, J.B.; BACKMAN, P.A. **Compendium of soybean diseases**. 3.ed. St. Paul: APS Press, 1989. 106p.
- SOAVE, J.; MORAES, S.A. de. Medidas de controle das doenças transmitidas por sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. da S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 192-259.
- TANAKA, M.A.S. Patogenicidade e transmissão por sementes do agente causal da ramulose do algodoeiro. Piracicaba, 1990. 111p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- TANAKA, M.A.S. Transmissão planta-semente e semente-plântula do agente causal da ramulose do algodoeiro. In: MENTEN, J.O.M. (Ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle**. Piracicaba: FEALQ, 1991. p. 171-178.
- TAYLOR, A.G.; HARMAN, G.E. Concepts and technologies of selected seed treatments. **Annual Review of Phytopathology**, v.28, p. 321-339, 1990.

- UTIAMADA, C.M.; NOMURA, S.L.; YORINORI, J.T. Eficiência dos fungicidas benomyl e carboxin + thiram no controle de patógenos de soja (*Glycine max*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 28., Ilhéus., 1995. Resumos. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p. 349, ago. 1995. Suplemento.
- VECHIATO, M. H.; KOHARA, E. Y.; LASCA, C. C.; CHIABA, S. Avaliação de metodologia para detecção de fungos em sementes de soja com e sem tratamento fungicida. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 28., Ilhéus., 1995. Resumos. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p. 352, ago. 1995. (Suplemento).
- YORINORI, J.T. **Cancro da haste da soja**. Londrina: EMBRAPA, CNPSO, 1990. 7p. (EMBRAPA/CNPSo. Comunicado Técnico, 44).
- YORINORI, J.T. Detecção do agente causador do cancro da haste em sementes de soja. In: MENTEN, J.O.M. (Ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: FEALQ, 1991. p.109-113.
- YORINORI, J.T. Principais doenças da cultura da soja e estratégias de controle. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 28., Ilhéus., 1995. Mesas Redondas. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p. 276, ago. 1995. Suplemento.
- YORINORI, J.T. **Cancro da haste da soja: epidemiologia e controle**. Londrina: EMBRAPA, CNPSO, 1996. 75p. (EMBRAPA/CNPSo. Circular Técnica, 14).
- YORINORI, J.T.; ALMEIDA, A.M.R.; HOMECHIN, M.; KIIHL, R.A.S.; POLA, J.N. Epifítia do cancro da haste da soja nos municípios de Castro, Palmeira, Ponta Grossa e Tibagi, no Paraná e Rondonópolis, no Mato Grosso, na safra 1988/89. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 5., Campo Grande, 1989. **Resumos**. Londrina: EMBRAPA, CNPSO, 1989. p. 22-23.

WALL, M.T.; McGEE, D.C.; BURRIS, J.S. Emergence and yield of fungicide - treated soybean seed differing in quality. **Agronomy Journal**, v.75, n.6, p. 969-973, Nov./Dec. 1983.

APÊNDICE

Apêndice 1. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Phomopsis sojae* (isolado Q1), com 8 dias de idade, por diferentes fungicidas *in vitro**. Piracicaba, 1996.

Tratamentos	Concentração dos fungicidas (ppm)			ED50	Classificação**
	1	10	100		
benomyl	100,00	100,00	100,00	<1	A.E.
captan	- 1,54	22,34	65,15	43,71	P.E.
carbendazin	100,00	100,00	100,00	<1	A.E.
carboxin + thiram	1,96	24,65	94,99	16,39	P.E.
difenoconazole	94,87	97,05	100,00	<1	A.E.
iprodione	0,77	81,90	92,55	6,64	M.E.
mancozeb	0,51	8,47	64,21	63,58	I.
procimidone	9,24	59,44	60,98	18,30	P.E.
quintozene	46,34	48,40	82,93	3,19	M.E.
thiabendazole	18,61	97,95	99,49	2,90	M.E.
thiram	0,13	34,79	98,07	13,74	P.E.
tolyfluanid	1,16	23,88	61,87	46,37	P.E.
triadimenol	4,36	74,33	100,00	6,30	M.E.
vinclozolin	1,67	62,00	78,18	11,77	P.E.
Total				232,88	

* Média de 5 repetições.

** A.E. = Altamente eficiente (ED50 < 1 ppm).

M.E. = Moderadamente eficiente (ED50 = 1-10 ppm).

P.E. = Pouco eficiente (ED50 = 10-50 ppm).

I. = Ineficiente (ED50 > 50 ppm).

Apêndice 2. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Phomopsis sojae* (isolado Q2), com 7 dias de idade, por diferentes fungicidas *in vitro**. Piracicaba. 1996.

Tratamentos	Concentração dos fungicidas (ppm)			ED50	Classificação**
	1	10	100		
benomyl	95,40	96,42	98,98	< 1	A.E.
captan	22,51	42,33	82,48	10,75	P.E.
carbendazin	95,01	95,01	96,68	< 1	A.E.
carboxin + thiram	5,50	38,36	98,08	12,02	P.E.
difenoconazole	85,68	98,34	100,00	< 1	A.E.
iprodione	27,49	96,04	99,36	2,05	M.E.
mancozeb	7,67	30,95	81,49	19,26	P.E.
procimidone	14,96	82,61	84,54	4,93	M.E.
quintozene	29,03	84,14	92,46	3,17	M.E.
thiabendazole	95,91	97,44	100,00	< 1	A.E.
thiram	5,50	78,52	90,15	10,62	P.E.
tolylfluanid	3,84	44,89	73,79	18,58	P.E.
triadimenol	20,84	79,67	100,00	3,15	M.E.
vinclozolin	5,50	78,52	90,15	6,42	M.E.
Total				90,94	

* Média de 5 repetições.

** A.E. = Altamente eficiente (ED50 < 1 ppm).

M.E. = Moderadamente eficiente (ED50 = 1-10 ppm).

P.E. = Pouco eficiente (ED50 = 10-50 ppm).

I. = Ineficiente (ED50 > 50 ppm).

Apêndice 3. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Phomopsis sojae* (isolado Q3), com 9 dias de idade, por diferentes fungicidas *in vitro**. Piracicaba. 1996.

Tratamentos	Concentração dos fungicidas (ppm)			ED ₅₀	Classificação**
	1	10	100		
benomyl	100,00	100,00	100,00	<1	A.E.
captan	- 40,42	- 3,21	87,17	35,81	P.E.
carbendazin	100,00	100,00	100,00	<1	A.E.
carboxin + thiram	71,32	85,55	98,68	<1	A.E.
difenoconazole	96,79	99,25	100,00	<1	A.E.
iprodione	6,60	91,70	94,34	6,95	M.E.
mancozeb	1,13	56,98	100,00	8,82	M.E.
procimidone	6,42	78,54	83,58	10,81	P.E.
quintozene	24,53	73,77	88,11	4,10	M.E.
thiabendazole	97,69	100,00	100,00	<1	A.E.
thiram	- 1,13	53,77	96,60	10	M.E.
tolyfluanid	10,06	56,42	93,40	8,61	M.E.
triadimenol	46,46	85,66	100,00	1,13	M.E.
vinclozolin	33,96	85,66	94,72	2,87	M.E.
Total				89,15	

* Média de 5 repetições.

** A.E. = Altamente eficiente (ED₅₀ < 1 ppm).

M.E. = Moderadamente eficiente (ED₅₀ = 1-10 ppm).

P.E. = Pouco eficiente (ED₅₀ = 10-50 ppm).

I. = Ineficiente (ED₅₀ > 50 ppm).

Apêndice 4. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Phomopsis sojae* (isolado Q4), com 6 dias de idade, por diferentes fungicidas *in vitro**. Piracicaba. 1996.

Tratamentos	Concentração dos fungicidas (ppm)			ED ₅₀	Classificação**
	1	10	100		
benomyl	94,34	95,24	96,53	< 1	A.E.
captan	7,46	52,31	64,91	13,55	P.E.
carbendazin	91,77	92,54	94,47	< 1	A.E.
carboxin + thiram	9,00	38,69	97,04	10,98	P.E.
difenoconazole	90,10	95,24	98,84	< 1	A.E.
iprodione	82,26	97,81	99,10	< 1	A.E.
mancozeb	6,04	19,02	57,07	76,59	I.
procimidone	37,79	76,61	98,71	2,04	M.E.
quintozene	23,26	72,37	76,09	5,33	M.E.
thiabendazole	92,67	94,60	98,07	< 1	A.E.
thiram	15,13	73,14	98,97	5,09	M.E.
tolylfluanid	9,38	40,10	71,08	20,88	P.E.
triadimenol	44,99	100,00	100,00	1,24	M.E.
vinclozolin	7,20	30,46	89,33	15,48	P.E.
Total				151,19	

* Média de 5 repetições.

** A.E. = Altamente eficiente (ED₅₀ < 1 ppm).

M.E. = Moderadamente eficiente (ED₅₀ = 1-10 ppm).

P.E. = Pouco eficiente (ED₅₀ = 10-50 ppm).

I. = Ineficiente (ED₅₀ > 50 ppm).

Apêndice 5. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* (isolado C1), com 5 dias de idade, por diferentes fungicidas *in vitro**. Piracicaba. 1996.

Tratamentos	Concentração dos fungicidas (ppm)			ED ₅₀	Classificação**
	1	10	100		
benomyl	100,00	100,00	100,00	< 1	A.E.
captan	8,32	50,92	100,00	11,16	P.E.
carbendazin	100,00	100,00	100,00	< 1	A.E.
carboxin + thiram	19,89	75,46	100,00	5,01	M.E.
difenoconazole	75,46	86,18	100,00	< 1	A.E.
iprodione	72,32	100,00	100,00	< 1	A.E.
mancozeb	3,53	89,14	100,00	5,09	M.E.
procimidone	69,82	82,37	89,84	< 1	A.E.
quintozene	60,37	94,50	98,87	< 1	A.E.
thiabendazole	98,17	100,00	100,00	< 1	A.E.
thiram	63,78	84,06	100,00	< 1	A.E.
tolyfluanid	15,80	91,68	100,00	3,54	M.E.
triadimenol	- 13,26	34,13	90,55	19,66	P.E.
vinclozolin	1,69	82,79	95,52	6,14	M.E.
Total				51,05	

* Média de 5 repetições.

** A.E. = Altamente eficiente (ED₅₀ < 1 ppm).

M.E. = Moderadamente eficiente (ED₅₀ = 1-10 ppm).

P.E. = Pouco eficiente (ED₅₀ = 10-50 ppm).

I. = Ineficiente (ED₅₀ > 50 ppm).

Apêndice 6. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Phomopsis phaseoli* f, sp. *meridionalis* (isolado C2), com 5 dias de idade, por diferentes fungicidas *in vitro**. Piracicaba, 1996.

Tratamentos	Concentração dos fungicidas (ppm)			ED ₅₀	Classificação**
	1	10	100		
benomyl	100,00	100,00	100,00	< 1	A.E.
captan	- 4,54	23,76	98,13	16,41	P.E.
carbendazin	100,00	100,00	100,00	< 1	A.E.
carboxin + thiram	0,4	62,75	100,00	8,18	M.E.
difenoconazole	83,98	100,00	100,00	< 1	A.E.
iprodione	16,29	80,24	100,00	4,28	M.E.
mancozeb	8,28	69,56	100,00	6,34	M.E.
procimidone	23,36	77,57	79,04	4,50	M.E.
quintozene	72,50	94,66	98,13	< 1	A.E.
thiabendazole	100,00	100,00	100,00	< 1	A.E.
thiram	3,34	48,20	93,59	11,10	P.E.
tolyfluanid	8,91	39,12	99,47	1,47	M.E.
triadimenol	9,21	47,93	94,86	9,25	M.E.
vinclozolin	- 10,15	50,87	87,18	11,14	P.E.
Total				72,71	

* Média de 5 repetições.

** A.E. = Altamente eficiente (ED₅₀ < 1 ppm).

M.E. = Moderadamente eficiente (ED₅₀ = 1-10 ppm).

P.E. = Pouco eficiente (ED₅₀ = 10-50 ppm).

I. = Ineficiente (ED₅₀ > 50 ppm).

Apêndice 7. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Phomopsis phaseoli* f. *sp. meridionalis* (isolado C3), com 5 dias de idade, por diferentes fungicidas *in vitro**. Piracicaba, 1996.

Tratamentos	Concentração dos fungicidas (ppm)			ED50	Classificação**
	1	10	100		
benomyl	100,00	100,00	100,00	< 1	A.E.
captan	5,74	100,00	100,00	2,94	M.E.
carbendazin	100,00	100,00	100,00	< 1	A.E.
carboxin + thiram	2,61	61,26	100,00	8,27	M.E.
difenoconazole	68,15	98,85	100,00	< 1	A.E.
iprodione	- 7,75	0,29	100,00	22,79	P.E.
mancozeb	25,54	44,19	97,42	7,33	M.E.
procimidone	42,47	82,78	84,65	1,16	M.E.
quintozene	52,94	90,82	99,46	< 1	A.E.
thiabendazole	99,57	100,00	100,00	< 1	A.E.
thiram	1,35	73,74	100,00	4,76	M.E.
tolylfluanid	2,01	76,47	98,28	6,64	M.E.
triadimenol	18,51	33,14	99,14	9,05	M.E.
vinclozolin	3,30	77,76	92,68	6,69	M.E.
Total				70,47	

* Média de 5 repetições.

** A.E. = Altamente eficiente (ED50 < 1 ppm).

M.E. = Moderadamente eficiente (ED50 = 1-10 ppm).

P.E. = Pouco eficiente (ED50 = 10-50 ppm).

I. = Ineficiente (ED50 > 50 ppm).

Apêndice 8. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Phomopsis phaseoli* f, sp. *meridionalis* (isolado C4), com 3 dias de idade, por diferentes fungicidas *in vitro**. Piracicaba, 1996.

Tratamentos	Concentração dos fungicidas (ppm)			ED50	Classificação**
	1	10	100		
benomyl	100,00	100,00	100,00	< 1	A.E.
captan	14,79	93,17	100,00	3,54	M.E.
carbendazin	100,00	100,00	100,00	< 1	A.E.
carboxin + thiram	20,69	57,68	100,00	5,90	M.E.
difenoconazole	100,00	100,00	100,00	< 1	A.E.
iprodione	8,15	8,53	100,00	4,59	M.E.
mancozeb	9,66	62,82	100,00	6,81	M.E.
procimidone	45,14	87,02	89,15	1,14	M.E.
quintozene	17,81	89,66	97,30	3,60	M.E.
thiabendazole	74,86	99,37	99,44	< 1	A.E.
thiram	18,56	80,75	100,00	3,94	M.E.
tolyfluanid	24,83	90,60	100,00	2,90	M.E.
triadimenol	0,50	15,42	100,00	15,94	P.E.
vinclozolin	25,20	72,60	91,16	4,21	M.E.
Total				52,57	

* Média de 5 repetições.

** A.E. = Altamente eficiente (ED50 < 1 ppm).

M.E. = Moderadamente eficiente (ED50 = 1-10 ppm).

P.E. = Pouco eficiente (ED50 = 10-50 ppm).

I. = Ineficiente (ED50 > 50 ppm).

Apêndice 9. Efeito¹ do período de incubação em sementes de soja não inoculadas ou inoculadas artificialmente com *Phomopsis sojae* e *Phomopsis phaseoli* f sp. *meridionalis*.

Parâmetros avaliados		Tratamentos		
Tempo de incubação (dias)	Estrutura Fúngica	Testemunha não inoculada ⁴	Testemunha inoculada ⁵	Testemunha inoculada ⁶
7	pic ²	4,5 a	63,5 c	49,0 b
7	pic + mic ³	4,5 a	63,5 c	55,0 b
10	pic	6,0 a	82,0 b	85,5 a
10	pic+mic	7,0 a	98,0 a	98,0 a
13	pic	6,0 a	93,0 a	92,0 a
13	pic+mic	8,5 a	98,0 a	98,0 a
CV %		92,10	2,69	7,70

¹ Médias de 4 repetições. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5 %.

² Sementes com picnídios típicos do patógeno.

³ Estão incluídas sementes com micélio característico do patógeno, porém sem estruturas de reprodução que permitam a exata identificação.

⁴ Sementes infectadas naturalmente com *Phomopsis* spp.

⁵ Sementes inoculadas com *Phomopsis sojae*.

⁶ Sementes inoculadas com *Phomopsis phaseoli* f sp. *meridionalis*.