

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

TRANSMISSÃO SEMENTE-PLÂNTULA DE *COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM* EM FEIJÃO (*PHASEOLUS VULGARIS*)M.S. Rey^{1*}, N.B. Lima¹, J. dos Santos^{2**}, C.R. Pierobom¹¹Universidade Federal de Pelotas, FAEM, CP 354, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. E-mail maris_rey@yahoo.com.br

RESUMO

A antracnose é uma doença que ataca a cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) resultando em perdas que podem chegar 100% em uma lavoura, se esta não for controlada previamente. O objetivo deste estudo foi verificar possíveis diferenças em taxas de transmissão semente-plântula entre as raças 65, 73 e 81 do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* isoladas de sementes de feijão, do cultivar Líder, pertencente à classe branco. As sementes foram inoculadas por meio de restrição hídrica no meio Mathur, modificado osmoticamente com sacarose no potencial osmótico de -1,0 Mpa. Foram semeadas 100 sementes infectadas com cada raça, divididas em quatro repetições de 25 sementes por bandeja, usando como testemunha sementes não inoculadas artificialmente. O comprimento das plântulas foi individualmente observado assim como o peso seco de cada parcela. Os resultados indicam que existem diferenças nas taxas de transmissão entre as raças de *C. lindemuthianum*. As taxas de transmissão foram de 75,85; 80,68 e 70,51%, para as raças 65, 73 e 81, respectivamente. As plântulas infectadas apresentaram menor comprimento do sistema radicular, porém, não demonstraram diferenças em tamanho de parte aérea e peso seco, em relação à testemunha. Conclui-se que o fungo *C. lindemuthianum* apresenta taxas de transmissão semente-planta que variam de 70 a 80% e o patógeno, independentemente de raças, pode interferir negativamente no sistema radicular de *Phaseolus vulgaris*.

PALAVRAS-CHAVE: Antracnose, patótipos, feijoeiro, sementes.

ABSTRACT

COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM SEED-PLANT TRANSMISSION IN BEANS. Anthracnose is a disease that attacks the bean crop (*Phaseolus vulgaris*) and if not previously controlled results in losses of up to 100%. The objective of this study was to verify possible differences in seed-plant transmission rates among races 65, 73 and 81 of *Colletotrichum lindemuthianum* isolated from bean seeds of the "Lider" cultivar. The seeds were inoculated by the water restriction technique in Mathur's medium modified with sucrose at the osmotic potential -1.0 Mpa. One hundred infected seeds were sowed for each race, divided in 4 repetitions of 25 seeds per tray. Non-inoculated seeds were used as the control. The length of the individual plants was observed as well as the dry weight of each plot. The results indicate that there are differences in the transmission rates among races of *C. lindemuthianum*. The transmission rates were 75.85, 80.68 and 70.51% respectively for the races 65, 73 and 81. Infected plants showed smaller length of the root system without showing differences in the size of the aerial part nor in dry weight, in relation to the control.

KEY WORDS: Anthracnose, pathotypes, beans, seeds.

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) é uma cultura que está sujeita ao ataque de vários micro-organismos. Muitos desses patógenos são agentes causais de doenças que podem ser transmitidas pelas sementes. A falta de qualidade das sementes representa uma das principais causas da baixa produtividade das lavouras

de feijão no Brasil, pois a maioria dos agricultores utiliza as suas próprias "sementes". Estas, geralmente, apresentam graus variáveis de mistura, com alto grau de umidade, baixa germinação e vigor e, infestados por insetos e patógenos. O fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. Magnus) Cavara é causador da

²Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

*Doutoranda em Fitossanidade, Bolsista CAPES, FAEM/UFPEL.

**Bolsista Capes, Doutorando em Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras.

antracnose do feijoeiro, doença que, sob condições ideais, pode causar danos de até 90% na lavoura (BALARDIN, 1997) principalmente pelo o plantio de sementes infectadas pelo fungo. Além da transmissão por sementes, os esporos do fungo podem ser levados por vento ou chuva, fazendo com que ocorra o repasse da doença também para áreas vizinhas, se não houver um controle adequado e antecipado.

A antracnose ocorre em áreas de temperaturas moderadas a frias e umidade relativa entre 90 e 96% (VECHIATO *et al.*, 1997). Nas sementes de feijoeiro os sintomas se manifestam por manchas empardecidas e deprimidas, mais facilmente notadas nas sementes de tegumento claro. Já na folha, os sintomas aparecem como manchas escuras que se estendem pelas nervuras. Nas hastes a doença mostra-se com lesões escuras, e em estágios mais desenvolvidos do fungo, formando depressões. Quanto a sua variabilidade, existem atualmente mais de trinta raças do fungo *C. lindemuthianum* identificadas e oriundas de diferentes regiões do mundo.

A análise de sanidade de sementes é de grande importância, fornecendo informações sobre os níveis de incidência do patógeno, que servirão como orientação na tomada de decisão sobre métodos de controle, quando os lotes de sementes chegam ao campo. Quanto a sua detecção atualmente é usado o método do rolo de papel, na qual se dispõe as sementes entre duas folhas de papel germitest, embebidas em água destilada e esterilizada (BRASIL, 1992), pois o patógeno se desenvolve de forma lenta e em condições de alta umidade. Algumas raças de *C. lindemuthianum* podem ser bastante agressivas e, por isso, a detecção em um lote de sementes seria indispensável para o controle da doença ou para a aprovação do lote para o plantio.

Tabela 1 – Reação da série diferenciadora para as raças de *C. lindemuthianum* inoculadas sobre os cultivares de *P. vulgaris*. Pelotas, 2006.

Série diferenciadora	Patótipos		
Cultivares	65	81	73
Michelite	S	S	S
MDRK*	R	R	S
Perry Marron	R	R	S
Cornell 49242	R	R	S
Widusa	R	S	S
Kaboon	R	R	S
México 222	S	S	S
PI 207262	R	R	S
TO	R	R	S
TU	R	R	S
AB136	R	R	S
G 2333	R	R	R

R=resistente S= suscetível *Michigan Dark Red Kidney.

A associação entre a severidade da doença e a recuperação do fungo nas sementes pode estar ligada à época em que o patógeno ataca a cultura. Assim, COSTA *et al.* (1994) evidenciaram que as perdas são maiores pelo fungo *C. lindemuthianum* quanto mais precoce for o aparecimento da doença na lavoura, isso pode ser explicado pela presença maior de lignina, quanto maior o estágio de desenvolvimento da cultura. Entretanto, em experimento realizado por SANTOS *et al.* (1993) com fungo *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, foi constatada que a infecção da planta também depende da época de inoculação, pois, à medida que se inoculou o fungo nos estágios mais avançados da planta, aumentou também a incidência de doença nas sementes, discordando do relato anterior.

O fungo *C. lindemuthianum* é considerado uma praga não quarentenária regulamentável, conceito adotado pela portaria número 71 de 1999 do Ministério da Agricultura, com nível de tolerância zero para que um lote considerado semente e não grão, pois se trata de uma praga de alto risco. Considerando uma semeadura de 400.000 sementes de feijão por hectare, um índice de ocorrência de *C. lindemuthianum* da ordem de 0,25%, significa a introdução de 1.000 focos primários de infecção na referida área (MACHADO, 1994). Entretanto, índices mais elevados de *C. lindemuthianum*, em sementes, podem ser insignificantes, epidemiologicamente, em regiões com predominância de temperaturas altas e com baixa umidade relativa (FREITAS, 1993).

Frente a isso, o objetivo deste trabalho foi estudar a taxa de transmissão semente-plântula das raças 65, 73 e 81 de *C. lindemuthianum* fungo causador da antracnose do feijoeiro (*P. vulgaris*).

O experimento foi conduzido no ano de 2006, no laboratório de Patologia de Sementes, do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", da Universidade Federal de Pelotas e dependências da EMBRAPA - Terras Baixas. Foram utilizadas sementes do cultivar FT NOBRE, provenientes da mesma instituição.

Tabela 2 – Sanidade inicial e porcentagem de germinação das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) usadas para inoculação. Pelotas. 2006.

Micoflora	Porcentagem (%)
<i>Aspergillus</i> sp.	18,0
<i>Penicillium</i> sp.	5,5
<i>Mucor</i> sp.	0,5
<i>Rhizopus</i> sp.	0,5
<i>Fusarium</i> sp.	0,5
<i>C. lindemuthianum</i>	0,5
Porcentagem de germinação das sementes	97,5

Foram utilizadas as raças 65, 73 e 81 de *C. lindemuthianum*, sendo estas isoladas de sementes de feijão da cultivar "Líder". As raças foram identificadas pelo sistema binário proposto por PASTOR CORRALES (1992), conforme Tabela 1. A avaliação da sanidade inicial das sementes foi realizada pelo método do papel-filtro ou "blotter-test" para todos os fungos, com exceção de *C. lindemuthianum*, na qual foi utilizado o método do rolo de papel, onde as sementes são envolvidas por duas folhas de "germitest" e embebidas em água destilada estéril. Esse teste é usado também para a verificação da porcentagem de germinação das sementes, conforme descrito pela RAS (1992), demonstrada na Tabela 2.

As três raças do fungo foram cultivadas em meio Mathur, disposto em placas de petri de 9 cm de diâmetro. Logo após o desenvolvimento do fungo, 100 sementes, divididas em 4 repetições de 25, foram inoculadas com cada uma das raças de *C. lindemuthianum*. Como testemunhas, foram usadas 100 sementes inoculadas somente com água destilada estéril, divididas em 4 repetições de 25. Para a inoculação das sementes o meio foi modificado osmoticamente com sacarose a -1,0 Mpa, calculado com o programa SPMM (MICHEL; RADCLIFFE, 1995) usando-se o método de inoculação de sementes descrito por CARVALHO (1999). As placas com o fungo e as sementes sobre ele foram incubadas usando uma temperatura base de 21°C, sob fotoperíodo de 12 horas. As 25 sementes foram dispostas nas placas de Petri, ficando por 96 horas em contato com o fungo. Logo após, passaram por uma assepsia com hipoclorito de sódio 1%, por 1 minuto e lavadas por três vezes com água destilada estéril. Depois da lavagem, as sementes foram secas em estufa por três dias com temperatura de 25°C.

As sementes inoculadas foram semeadas em bandejas de plástico de 28 cm x 43 cm, sendo 100 sementes por bandeja, divididas em quatro repetições (parcelas) de 25 sementes infectadas pelas três raças do fungo e uma testemunha não inoculada. E após, postas em caixas de plástico tampadas para que se formasse uma câmara úmida por 48 horas. As bandejas ficaram em câmara de crescimento com temperatura de 20°C ± 1°C com fotoperíodo de 12 horas, por dez dias. O substrato utilizado foi Plantmax Hortaliças-HT.

Para a avaliação de planta doente foram considerados os sintomas do fungo em cotilédones, hastes ou folhas. Foi medido também o tamanho das plântulas em cm, tanto da parte aérea, como do sistema radicular. Para cálculo da taxa de transmissão usou-se a seguinte fórmula adaptada de TEIXEIRA; MACHADO (2003):

$$T.T(\%) = \frac{T.I(\%) \times 100}{I.S(\%)}$$

Em que:

T.I = taxa de infecção em plantas de feijão com sintomas de *C. lindemuthianum*;

I.S = incidência da doença em sementes inoculadas artificialmente.

Também foi verificado o peso seco das plantas, por meio da pesagem das parcelas separadamente, depois destas terem permanecido por quatro dias em estufa com calor seco, sob temperatura de 35°C. A análise dos resultados foi feita com o programa estatístico Genes (CRUZ, 1997).

Este estudo demonstra que, mesmo ocorrendo uma pequena variação entre os valores das taxas de transmissão semente-plântula do fungo *C. lindemuthianum*, existem diferenças entre elas. Os valores foram de 76,86; 80,68 e 70,51%, respectivamente, para as raças 65, 73 e 81 do fungo, conforme a Tabela 3. O fungo mostrou um significativo poder de transmissão, pois, mesmo as sementes ficando um pequeno espaço de tempo em contato com o fungo e este não cobrindo 100% da área total das sementes inoculadas, o inóculo foi suficiente pra causar taxas de transmissão que variaram de 70 a 80%. As lesões que ocorreram por inoculação das sementes, com as três raças do patógeno, mostraram sintomas típicos da doença. Em todas as partes das plantas de feijão como hastes, folhas e cotilédones, ocorreram lesões ou estruturas do patógeno, evidenciando a infecção do fungo.

Os resultados deste estudam com concordam com VECHIATO *et al.* (1997) que obtiveram altas taxas de transmissão de *C. lindemuthianum* em sementes de feijão da cultivar Carioca, que variaram de 70 a 100% em condições de casa de vegetação. Entretanto, em condições de campo, VECHIATO (2001) demonstrou não haver correlação entre a porcentagem de plantas com sintomas de antracnose no campo e a incidência *C. lindemuthianum* nas sementes. O mesmo autor, porém, relata que a transmissão do fungo por sementes da cultivar Carioca foi alta variou de 70 a 100% em condições de casa de vegetação.

Tabela 3 – Taxa de transmissão das raças de *C. lindemuthianum* em plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris*). Pelotas, 2006.

Raças	Taxa de transmissão (%)
65	75,86
73	80,68
81	70,51

Também foram avaliados neste experimento os danos ocasionados no comprimento de raiz, comprimento de parte aérea e peso seco das parcelas (Figs. 1, 2 e 3). Os resultados mostraram que o fungo alterou negativamente o comprimento de raiz. Ocorreram médias de 6,87; 6,22; 5,65 cm de comprimento para as raças 65, 73 e 81, respectivamente, enquanto que a testemunha demonstrou uma média de 10,3 cm, sugerindo que o fungo, mesmo não mostrando uma diferença significativa entre os efeitos dos patótipos, causou uma diminuição de aproximadamente 38% no comprimento de raiz.

Com relação à reação do fungo na parte aérea, ocorreram médias de comprimento em torno de 17 cm, não havendo diferença estatística entre o efeito das raças e a testemunha, demonstrando que neste experimento o fungo *C. lindemuthianum* não afetou a parte aérea das plântulas de feijão. O mesmo ocorre com o peso seco das parcelas, pois não houve diferença estatística entre os valores das médias das plântulas oriundas de sementes inoculadas e a testemunha não inoculada.

O fungo *C. lindemuthianum* é muito dependente de alguns fatores como alta umidade e temperatura amenas para que se desenvolva, entretanto, em uma semente pode haver esporos suficientes para que ocorra uma epidemia, se as condições forem ideais para o crescimento e viabilidade do patógeno. O alto poder de disseminação e destruição do fungo, aliado a sua probabilidade de transmissão, justifica o seu nível de tolerância de zero por cento no lote de sementes, especificado pelo Grupo Técnico Permanente de Sanidade de Sementes, responsável pela determinação desses níveis.

Os resultados do trabalho demonstram que o fungo pode afetar significativamente o sistema radicular de *P. vulgares*, e esses vão contra as citações de ARAUJO; ZAMBOLIM (1993), quando afirmam que é pouco provável que por meio de infecção artificial o micélio chegue aos cotilédones e outras partes das plantas, diz também que, com isso, a inoculação artificial torna-se um método bastante perigoso quando se quer avaliar transmissão de fungos em sementes de feijão. Com relação ao comprimento de plântulas e peso seco das parcelas, como os patótipos do fungo não alteraram significativamente seus valores com relação à testemunha, pode ser traçado um paralelo com os valores encontrados por ARAUJO *et al.* (1994), quando o autor mostrou haver apenas correspondência parcial entre sementes inoculadas e as reações das plantas atacadas pelo fungo *C. lindemuthianum*.

As taxas de transmissão ocorridas neste experimento pelo fungo *C. lindemuthianum* podem ser consideradas altas, pois fungos como *Fusarium moniliforme* (J. Sheld) e *Pyricularia oryzae* possuem taxas de 14 a 46% e 9,52% de transmissão dos patógenos, respectivamente, das sementes para as plântulas (SARTORI *et al.*, 2004; MANANDHAR, 1998).

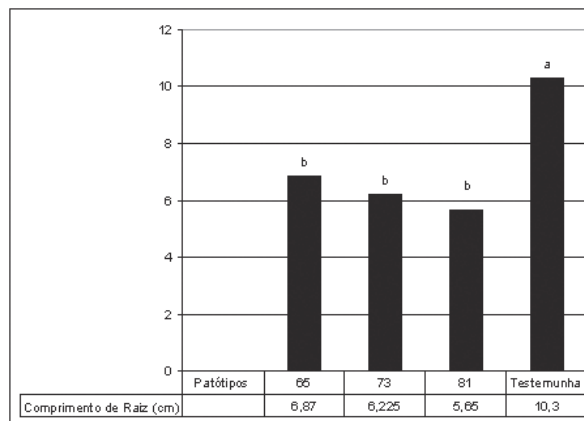


Fig. 1 – Comprimento do sistema radicular de plantas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas pelas raças 65, 73 e 81 de *C. lindemuthianum*. Pelotas, 2004 (médias seguidas pelas mesmas letras em uma mesma avaliação não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância).

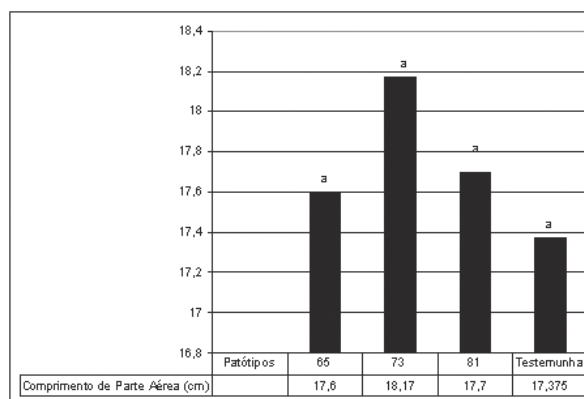


Fig. 2 – Comprimento da parte aérea de plantas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas pelas raças 65, 73 e 81 de *C. lindemuthianum*. Pelotas, 2004 (médias seguidas pelas mesmas letras em uma mesma avaliação não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância).

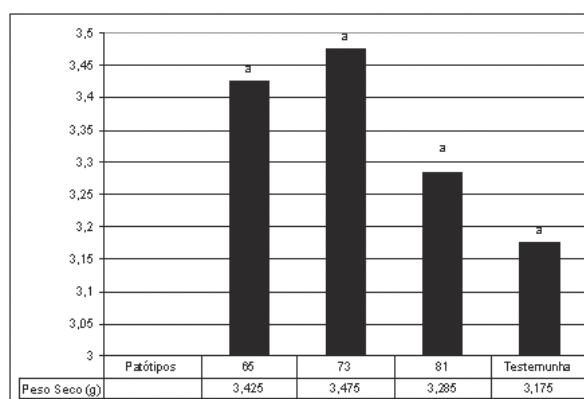


Fig. 3 – Peso seco de plantas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas pelas raças 65, 73 e 81 de *C. lindemuthianum*. Pelotas, 2004 (médias seguidas pelas mesmas letras em uma mesma avaliação não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância).

O fator variabilidade mostra-se como um dos principais problemas para o controle do fungo *C. lindemuthianum* no que diz respeito ao melhoramento genético, pois a cada ano surgem novas raças que são suscetíveis ou resistentes a determinadas cultivares, e campos de produção que até então eram livres da doença se tornam infectados pelo uso de sementes de má qualidade e com níveis elevados da presença do patógeno. Outro fator que limita o seu controle é o alto poder epidêmico, pois, mesmo em níveis baixos de contaminação das sementes, quando semeadas no campo, tendo condições favoráveis, essas sementes servem como fonte de inóculo primário.

Com base nos resultados obtidos neste estudo, considerando que o patógeno mencionado é transmitido por semente e o controle químico tem uma eficiência relativa, a utilização no plantio de sementes portadoras do patógeno pode aumentar o inóculo em áreas produtoras, inviabilizando muitas vezes a produção (VECHIATO *et al.*, 1997). Sugere-se que uma das alternativas para o controle da antracnose em sementes de feijoeiro seja o monitoramento de sua qualidade, submetendo às sementes comercializadas a análise de sanidade feita pelos laboratórios credenciados pelo Ministério da Agricultura. Essas análises são essenciais para a recusa ou aceite de lotes de sementes, e a obediência ao nível zero de tolerância do fungo imposto pelo GTPS (Grupo Técnico Permanente de Sanidade Vegetal).

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que o fungo *C. lindemuthianum* apresenta taxas de transmissão semente-planta que variam de 70 a 80% e o patógeno, independentemente de raças, pode interferir negativamente no sistema radicular de *P. vulgaris*.

REFERÊNCIAS

- ARAUJO, E.; ZAMBOLIN, L. Infecção das vagens de seis cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*) por seis raças de fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum*. *Fitopatologia Brasileira*, v.18, n.1, p.5-11, 1993.
- ARAÚJO, E. *et al.* Reações de plântulas, vagens e sementes de feijão a seis raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum*. *Revista Ceres*, v.41, n.237, p.584-594, 1994.
- BALARDIN, R. S.; JAROSZ, A. M.; KELLY, J. D. Virulence and Molecular Diversity in *Colletotrichum lindemuthianum* from South Central, and North America. *Phytopathology*, v.87, n.12, p.1184-1191, 1997.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. *Regras para a Análise de Sementes*. Brasília: Departamento Nacional de Produção Vegetal, 1992. Cap. 9 Teste de Sanidade de Sementes, p.206-211.
- CARVALHO, J.C.B. *Uso da Colletotrichum lindemuthianum em sementes de feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.)*. 1999. 98f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.
- COSTA, J.G.C.; RAVA, C.A.; SARTORATO, A. Obtenção de linhagens de feijoeiro comum com tipo de grão preto, resistente á antracnose e com boas características agronômicas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.29, p.617-624, 1994.
- CRUZ, C. D. *Programa Genes - Aplicativo Computacional em Genética e Estatística*. Viçosa: Editora UFV, 1997. v.1, 442p.
- FREITAS, R.A. Patologia de sementes de feijão. 1993. Disponível em: <<http://www.orbita.starmedia.com/~fitopatologia/patofeijao.htm>>. Acesso em: 30 jan. 2007.
- MACHADO, J. da C. Padrões de tolerância de patógenos associados à semente. *Revisão Anual de Patologia de Planta*, n.2, p.229-263, 1994.
- MANANGHAR, H.K.; LYNGS JORGENSEN, H.J.; SMEDEGAARD-PETERSEN, V.; MATHUR, S.B. Seedborne infection of rice by *Pyricularia oryzae* and its Transmission to seedlings. *Plant Disease*, v.82, p.1093-1099, 1998.
- MICHEL, B.E.; RADCLIFFE, D. A. computer program relating solute potencial to solution composition for five solutes. *Agronomy Journal*, v.87, 1995.
- PASTOR-CORRALES, M.A. La Antracnosis del frijol comum, *Phaseolus vulgaris*, em América Latina. Cali: Programa Del Frijol, CIAT, 1992. 251p. (Documento de Trabajo, n.113.).
- SANTOS, G.R.; ZAMBOLIN, L.; BATISTA, U.G. Transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes de algodoeiro em função do período de inoculação de plantas. *Grupo Paulista de Fitopatologia*, v.19, n.3/4, 1993.
- SARTORI, A.F.; REIS, E.M.; CASA, R.T. Quantificação da transmissão de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, n.4, p.456-458, 2004.
- TEIXEIRA, H.; MACHADO, J.C. Transmissibilidade e efeito de *Acremonium strictum* em sementes de milho. *Ciência e Agrotecnologia*, v.27, n.5, p.1045-1052, 2003.
- VECHIATO, M.H.; KOHARA, E.Y.; MENTEN, J.O.M. Transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro comum. *Summa Phytopathologica*, v.23, p.265-269, 1997a.
- VECHIATO, M.H.; CASTRO, J.L.; ISHIMURA, I.; SABINO, J.C.; MENTEN, J.O.M. Antracnose do feijoeiro: correlação entre severidade em vagens e a incidência do patógeno nas sementes. *Fitopatologia Brasileira*, v.22, n.2, p.159-163, 1997b.

VECHIATO, M.H.; LASCA, C.C.; KOHARA, E.Y.; CHIBA, S. Antracnose do feijoeiro: tratamento de sementes e correlação entre a incidência em plantas e infecção de sementes. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.68, n.1, p.83-87, 2001.

ZAMBOLIN, E. A.; VALE, F. X. R.; VIEIRA, C. Correlação entre a severidade da Antracnose em Vagens de

feijoeiro e a transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* pelas sementes. *Turrialba*, v. 44, n. 4, p.255-260, 1994.

Recebido em 20/6/07

Aceito em 1/5/09