

Detecção de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes do banco de germoplasma de feijão da Universidade do Estado de Santa Catarina

Colletotrichum lindemuthianum detection in seeds of germoplasm bank bean of Santa Catarina State University

Cynara Lívia Bassan Montemor¹, Ricardo Trezzi Casa², Filipe Souza Oliveira², Paulo Roberto Kuhnem Junior⁴, Amauri Bogo², Thais Roseli Corrêa³

Recebido em 15/10/2010; aprovado em 17/08/2011.

RESUMO

Sementes de feijão do banco de germoplasma da Universidade do Estado de Santa Catarina (BAF/UDESC), Lages, SC, colhidas nas safras agrícolas 2008/09 e 2009/10, foram utilizadas em teste de sanidade de sementes com o objetivo de avaliar a incidência do fungo *Colletotrichum lindemuthianum*. Foram testados como substratos os meios de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA+A) e V-8 (suco de tomate) e o método do Papel de Filtro. Utilizaram-se 17 e 13 acessos de feijão em 2009 e 2010, respectivamente, incluindo, nos dois anos, quatro cultivares comerciais: Pérola, BRS-Supremo, SCS 202 Guará e IPR-Uirapuru. Para cada material analisado foram utilizadas 200 sementes, dispostas em quatro repetições de 50 sementes. As sementes foram incubadas durante dez dias em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 21°C. O fungo *C. lindemuthianum* não foi detectado nos acessos BAF51 e BAF86 analisados em 2009. O meio V8 apresentou-se como melhor método de detecção e a cultivar SCS 202 Guará apresentou maior incidência do patógeno dentre os acessos testados. Em 2010, o fungo foi detectado em todos os acessos e não houve diferença significativa entre os substratos, mas houve diferença significativa entre os

acessos testados, sendo que BAF07 apresentou maior incidência do patógeno. A presença do fungo *C. lindemuthianum* nas sementes de feijão dos acessos do Banco Germoplasma de Feijão da UDESC indica a necessidade da adoção de medidas de controle que visam reduzir sua incidência na semente.

PALAVRAS-CHAVE: antracnose, patologia de sementes, *Phaseolus vulgaris*.

SUMMARY

Beans seeds of Germoplasm bank from Santa Catarina State University (BAF/UDESC), Lages, SC, harvested in 2008/2009 e 2009/2010 seasons, were used in sanity tests of seeds with the objective to evaluate the incidence of fungus *Colletotrichum lindemuthianum*. The media culture were tested of Potato-Dextrose-Ágar (PDA) and V-8 (tomato juice) and the Blotter Test Method. Evaluated 17 and 13 accesses in 2009 and 2010, respectively, including in two years four commercial cultivates: Pérola, BRS-Supremo, SCS 202 Guará e IPR-Uirapuru. For each analyzed material were cultivated 200 seeds, ordered in four repetitions of 50 seeds. The seeds were incubated during ten days in growing chamber with photoperiod of 12 hours

¹ Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina – CAV/UDESC. Av. Luiz de Camões, 2090, CEP 88520-000, Lages, SC, Brasil.

² Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina – CAV/UDESC. Av. Luiz de Camões, 2090, CEP 88520-000, Lages, SC, Brasil. Email: a2rtc@cav.udesc.br. *Autor para correspondência.

³ Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa - UFV. Av. Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário, CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil.

⁴ Programa de Pós-graduação em Fitossanidade. Universidade do Rio Grande do Sul - UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 7712, Caixa Postal 15100, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

and temperature of 21°C. The *C. lindemuthianum* fungus was not detected in accesses BAF51 e BAF86 analyzed in 2009. The media V8 presented itself like the best method of detection and the cultivate SCS 202 Guar presented most of incidence of pathogen among the tested accesses. In 2010 the fungus was detected in all access, and there wasn't significant difference between substrates, however there was significant difference between the tested accesses, most wile BAF07 presented most incidence of pathogen. The presence of the fungus *C. lindemuthianum* in the accesses seeds of the Germoplasm Bank of Bean UDESC indicates the need to adopt control measures to reduce their incidence on seeds.

KEY WORDS: anthracnose, seed pathology, *Phaseolus vulgaris*.

INTRODUÇÃO

A cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) pode ser afetada pela ocorrência de doenças causadas por fungos que podem ser transmitidos por sementes (RICHARDSON, 1979). Uma das mais importantes causas da baixa produtividade das lavouras de feijão no Brasil é a falta de qualidade das sementes, visto que muitos produtores usam sementes de produção própria. Alguns fungos patognicos do feijão, pertencentes aos gneros *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina* e *Phaeoisaropsis* (SARTORATO e RAVA, 2000; RAVA et al., 2002; TORRES e BRINGEL, 2005), utilizam as sementes infectadas como veículo de introdução em novas áreas de cultivo, podendo causar danos à cultura se estiverem sob condições ambientais favoráveis (SANTOS et al., 1996). No entanto, a presença do patógeno na semente não garante que o mesmo irá ser transmitido para a planta, visto que vários fatores influenciam nessa possível transmissão, como a quantidade de inóculo, condições edafoclimáticas e o tempo de sobrevivência do patógeno na semente (SARTORATO e RAVA, 2000; RAVA et al., 2002).

A associação patógeno-semente permite a transmissão e estabelecimento do patógeno no campo. O fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. e Magnus) pode ser transmitido da semente

para planta (SARTORATO e RAVA 2000; RAVA et al., 2002). A semente é essencial para a sobrevivência de *C. lindemuthianum*, sendo a forma mais eficiente para introdução do patógeno em áreas isentas da doença e sua disseminação a longas distâncias (VIEIRA, 1988; VECHIATO et al., 1997; DALLA PRIA e SILVA, 2010). O teste de sanidade de sementes é muito importante, visto que fornece informações sobre os níveis de incidência do patógeno que podem ser utilizadas na tomada de decisão sobre o método de controle a ser utilizado (BRASIL, 2009). O principal objetivo dos testes de sanidade de sementes é a determinação da condição sanitária de um lote de sementes, oferecendo informações para tratamento de sementes, programas de melhoramento genético de plantas, serviços de vigilância vegetal, programas de certificação, entre outros (HENNING, 1994; MACHADO, 2000).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a incidência de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão oriundas do Banco Ativo de Germoplasma de Feijão da UDESC, comparando três métodos de análise de sementes: os meios de cultura BDA+A (Batata-Dextrose-gar + Antibiótico) e V-8 (Suco de tomate) e o Papel de Filtro.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Labortorio de Fitopatologia do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, CAV/UDESC, Lages, SC. Foram utilizadas sementes de feijão do Banco Ativo de Germoplasma de Feijão (BAF) da UDESC colhidas nas safras agrícolas de 2008/09 e 2009/10. Da colheita de 2009 foram utilizadas as sementes dos acessos BAF01, 02, 07, 09, 10, 14, 35, 42, 50, 51, 80, 86 e 102 e as cultivares comerciais Pérola, BRS Supremo, SCS 202 Guará e IPR Uirapuru, somando um total de 17 genótipos. Em 2010, as cultivares comerciais se repetiram e os acessos utilizados foram os BAF 01, 02, 07, 10, 14, 44, 45, 60 e 148, somando um total de 13 genótipos.

A avaliação da incidência de *C. lindemuthianum* nas sementes de feijão foi realizada por meio de teste de sanidade em

sementes em três substratos: 1) meio de cultura de BDA+A (batata-dextrose-ágar = Marca Himedia® 39 g L⁻¹ + antibiótico = 200 mg L⁻¹ de sulfato de estreptomicina); 2) meio V8 (200 ml de suco V8 (Tomato Juice®), 4,5 g de CaCO₃, 17 g de Ágar e 800 ml de água destilada); e 3) método do Papel de Filtro (24 horas a 21°C e fotoperíodo de 12 horas, em seguida 24 horas em freezer a -5°C e retorno a 21°C e fotoperíodo de 12 horas em câmara de crescimento) (FERNANDEZ, 1993; BRASIL, 2009).

As sementes de feijão foram desinfestadas com hipoclorito de sódio (1%) durante três minutos e, em seguida, lavadas com água esterilizada para retirada do hipoclorito de sódio. Posteriormente, foram dispostas em caixas de acrílico tipo gerbox, contendo os substratos, na proporção de 25 sementes por caixa. O material foi incubado durante dez dias em câmara de crescimento com temperatura de 21°C e fotoperíodo de 12 horas. Foi considerada infectada a semente sobre a qual foi possível identificar a colônia ou estruturas do fungo *C. lindemuthianum* sob lupa binocular (Zeiss 50x). Confirmação da presença do fungo foi feita com montagem de lâmina em microscópio ótico, analisando-se as estruturas do fungo.

Em cada teste de substrato foram utilizadas 200 sementes por genótipo, sendo quatro repetições de 50 sementes, em delineamento experimental bifatorial (genótipo de feijão e substrato) inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos aos testes das pressuposições do modelo matemático os dados de percentagem transformados pela fórmula ARCSEN $[(x+0,5)/(100)]^{1/2}$, antes de serem submetidos à análise de variância ($F \leq 0,05$). Não houve interação significativa pelo teste F ($F \leq 0,05$) entre genótipos e substratos, nos dois anos do experimento. Para a comparação das médias adotou-se o teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos dois anos de experimento foi constatada a presença de *C. lindemuthianum* em sementes de feijão do Banco de Germoplasma da UDESC, nos dois meios de cultura e no método padrão de detecção (Tabela 1). O fungo somente não foi detectado nos acessos BAF51 e BAF86 colhidos somente na safra 2008/09 (Tabela 1).

Nas sementes colhidas em 2009 houve diferença significativa entre os testes de sanidade de sementes, visto que V-8 foi o melhor método de detecção, apresentando maior incidência média de *C. lindemuthianum* (Tabela 1). Possivelmente, o que diferenciou o meio V-8 como o melhor para detecção do patógeno em questão, foi o fato de ele ser um meio mais nutritivo e oferecer melhores condições para o fungo se desenvolver, visto que na composição química do suco V-8 estão presentes teores consideráveis de proteína, carboidrato, açúcares, magnésio, vitaminas A e C, ferro e cálcio. Meios à base de carboidrato estimulam o crescimento micelial do fungo (MOORE-LANDEKER, 1972) e meios à base de extratos vegetais estimulam a esporulação dos mesmos (DHINGRA e SINCLAIR, 1995). Por outro lado, nas sementes colhidas em 2010, não houve diferença estatística entre os substratos (Tabela 1).

Martins et al. (2005) testando isolados de *Colletotrichum gloesporioides* (Penz) Penz & Sacc., isolados da cultura do maracujá, frente à ação dos meios líquidos V-8, BD (Batata-Dextrose) e BD+EL (Batata-Dextrose + Extrato de Levedura), verificaram que o meio V-8 proporcionou boa esporulação. Segundo Frigeri (2007), que utilizou sementes das cultivares carioca e FT Nobre em teste de sanidade de sementes com inoculação artificial de *C. lindemuthianum*, o meio de BDA (sem restrição hídrica) e BDA + M (com restrição hídrica), ambos testados sem e com a desinfecção superficial das sementes, demonstraram-se sensíveis na detecção do patógeno. No mesmo trabalho, o teste de sanidade de sementes feito para caracterizar a sanidade inicial das mesmas, demonstrou que o método do Papel de Filtro não detectou o fungo. Por outro lado, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), utiliza o método do Papel de Filtro como padrão para teste de sanidade de semente (BRASIL, 2009).

Nas sementes colhidas em 2009 a cultivar SCS 202 Guará apresentou maior incidência média de *C. lindemuthianum*, diferindo significativamente dos demais acessos (Tabela 1). Elias et al. (2003) caracterizaram essa cultivar como resistente aos patótipos 07, 95, 89 e 73 de *C. lindemuthianum*, porém suscetível ao patótipo 69. Em 2010, houve diferença

Tabela 1 - Incidência de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de genótipos de feijão do Banco de Germoplasma da UDESC nas safras agrícolas de 2008/2009 e 2009/2010. Lages, SC.

Genótipos	Teste de Sanidade de Sementes / Incidência de <i>C. lindemuthianum</i> (%)							
	2008/09				2009/10			
	BDA	V8	Papel de Filtro	média	BDA	V8	Papel de Filtro	média
1. Pérola	0,5	0,75	1,0	0,8	2,0	1,0	0,5	1,2 c
2.SCS0202Guará	1,0	2,25	2,0	1,8*	0,5	0,5	0,5	0,5 c
3. IPR Uirapuru	0,0	0,0	0,0	0,0	4,5	3,5	4,0	4,0 b
4.BRS Supremo	0,0	0,5	0,0	0,2	2,0	2,5	1,5	2,0 c
5.BAF01	0,0	0,5	0,0	0,2	0,0	2,0	0,0	0,7 c
6.BAF02	0,0	1,5	0,0	0,4	4,5	3,0	4,0	3,8 b
7.BAF07	0,0	0,25	0,25	0,2	4,5	6,0	5,5	5,3 a
8.BAF09	1,0	1,0	0,0	0,7	-	-	-	-
9.BAF10	0,0	1,5	0,25	0,6	2,0	5,5	4,5	4,0 b
10.B AF14	0,75	1,0	0,0	0,6	3,5	4,0	1,0	2,8 bc
11.BAF35	0,75	0,5	0,75	0,7	-	-	-	-
12.BAF42	0,0	1,0	0,0	0,3	-	-	-	-
13.BAF44	-	-	-	-	1,5	1,0	1,0	1,2 c
14.BAF45	-	-	-	-	4,5	4,5	3,0	4,0 b
15.BAF50	1,0	1,25	0,0	0,8	-	-	-	-
16.BAF51	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-
17.BAF60	-	-	-	-	4,5	4,5	4,0	4,3 b
18.BAF80	0,0	0,5	0,75	0,4	-	-	-	-
19.BAF86	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-	-	-
20.BAF102	0,5	0,25	0,0	0,3	-	-	-	-
21.BAF148	-	-	-	-	4,0	3,5	1,5	3,0 c
Média	0,3 b	0,8 a	0,3 b	0,5 A	2,9 ^{n.s.}	3,2	2,4	2,8 B
C.V. (%)				22,68				

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

* difere significativamente pelo teste de Tukey na linha ($P \leq 0,05$);

^{n.s.} não significativo pelo teste de Tukey na linha ($P \geq 0,05$).

significativa entre os acessos testados. O BAF07 diferiu significativamente dos demais com maior incidência média (Tabela 1). A cultivar IPR Uirapuru e os BAF's 02, 10, 14, 45 e 60 não diferiram significativamente entre si, mas diferiram do BAF07. As cultivares Pérola, SCS 202 Guará e BRS Supremo e os BAF's 1, 14, 44 e 148 não diferiram entre si e apresentaram menor incidência de *C. lindemuthianum* (Tabela 1). Nas sementes da cultivar Pérola, o fungo foi detectado nos dois anos, confirmando sua suscetibilidade à *C. lindemuthianum*, conforme trabalho de Yokoyama et al. (1999). O fungo também foi detectado nas sementes de BRS Supremo, com maior incidência no segundo ano. Porém Costa et al. (2004) descrevem que essa cultivar mostra-se resistente aos patótipos de *C. lindemuthianum* 55 (lambda), 89 (alfa Brasil), 95 (capa) e 453 (zeta).

As cultivares BRS Supremo e SCS 202 Guará, caracterizadas como resistentes ao *C. lindemuthianum* (ELIAS et al., 2003; COSTA et al., 2004), apresentaram-se suscetíveis neste trabalho, o que pode trazer como hipóteses: possível quebra da resistência, devido à alta variabilidade patogênica do fungo (BALARDIN, 1997; SILVA, 2004) e não caracterização dos patótipos nos acessos de feijão do BAF. As variações de detecção do fungo *C. lindemuthianum* nas sementes dos acessos do BAF e das cultivares comerciais obtidas sob inoculação natural em Lages indicam a necessidade de inoculação artificial com diferentes patótipos para caracterizar a reação dos acessos.

O uso de diferentes acessos, o cultivo em monocultura de feijão e a maior precipitação pluvial durante a formação de vagens e dos grãos

pode ter favorecido a maior incidência de *C. lindemuthianum* nas sementes colhidas em 2010. Considerando os meses de dezembro a março, período de cultivo dos experimentos, constatou-se que na safra 2008/09 a precipitação foi de 478 mm com 50 dias de chuva, e na safra de 2009/10 foi de 646 mm com 60 dias de chuva (Estação Meteorológica do CAV/UDESC).

CONCLUSÕES

O fungo *C. lindemuthianum* é detectado com maior incidência em sementes de feijão do Banco Ativo de Germoplasma de Feijão (BAF) da UDESC quando são utilizados como substratos meios de cultura agarizados.

A presença do fungo *C. lindemuthianum* nas sementes de feijão dos acessos do BAF/UDESC indica a necessidade da adoção de medidas de controle que visem reduzir a incidência do fungo na semente genética ou básica.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro a este projeto e aos professores Dr. Altamir Frederico Guidolin e Dr. Jefferson Luís Meirelles Coimbra pela disponibilização das sementes do Banco de Germoplasma da UDESC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALARDIN, R.S. Identificação de raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, p.50-53, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Teste de Sanidade de Sementes. In: **Regras para a Análise de Sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. Cap.9, p.335-340.

COSTA, J. G. C. da et al. **BRS Supremo**: cultivar de feijão preto de feijoeiro comum de porte ereto indicada para as regiões sul e centro-oeste. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e feijão, 2004. 2p. Comunicado Técnico, 87.

DALLA PRIA, M.; SILVA, O.C. Antracnose. In: DALLA PRIA, M.; SILVA, O.C. (ed). **Cultura do feijão: doenças e controle**. Ponta Grossa:

Editora UEPG, 2010. p.49-56.

DHINGRA O.D.; SINCLAIR, J.B. **Basic plant pathology methods**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. 435p.

ELIAS, H.T. et al. SCS 202 Nova cultivar de feijoeiro para Santa Catarina. In: REUNIÃO TÉCNICA CATARINENSE DE MILHO E FEIJÃO, 4., 2003, Lages. **Resumos Expandidos...** Lages: Graphel, 2003. p.320-322.

FERNANDEZ, M.R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNTP, 1993. 128p.

FRIGERI, T. **Interferência de patógenos nos resultados dos testes de vigor em sementes de feijoeiro**. 2007. 77p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal.

HENNING, A.A. **Patologia de sementes**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1994. 43p. EMBRAPA- CNPSO. Documento, 90.

MACHADO, J.C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138p.

MARTINS, I. et al. **Produção de *Colletotrichum gloeosporioides* em meios líquidos**. Brasília: EMBRAPA, 2005. 6p. Circular Técnica, 45.

MOORE-LANDECKER, E. **Fundamentals of the fungi**. London. Prentice-Hall. 1972.

RAVA, C.A. et al. **Produção de sementes de feijoeiro comum livres de *Colletotrichum lindemuthianum* em várzeas tropicais irrigadas por subirrigação**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. 16p. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 1.

RICHARDSON, M.J. **An annotated list of seed-borne diseases**. Zurich: CAB/CMI/ISTA, 1979. 320p.

SANTOS, G.R. et al. Transporte, transmissibilidade e patogenicidade da microflora associada às sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v.43, p.621-627, 1996.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. Patologia de sementes. In: VIEIRA, E.H.N.; RAVA, C.A. (ed.). **Sementes de feijão: produção e tecnologia**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2000. p.201-218.

SILVA, K.J.D. **Distribuição e caracterização de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* no Brasil**. 2004. 86p. Dissertação de Mestrado.

Universidade Federal de Lavras, Lavras.

TORRES, S.B.; BRINGEL, J.M.M. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão-macassar. **Caatinga**, Mossoró, v.18, p.88-92, 2005.

VECHIATO, M.H. et al. Transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.23, p.265-269, 1997.

VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: UFV, 1988. 23p.

YOKOHAMA, L.P. et al. **Nível de aceitabilidade da cultivar de feijão Pérola**: avaliação preliminar. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e feijão, 1999. 21p. Documentos, 98.