

UNIVERSIDADE ESTADUAL “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E SENSIBILIDADE DE
ISOLADOS DE *Colletotrichum lindemuthianum* DE FEIJÃO-VAGEM A
FUNGICIDAS**

RONALDO CARAVIERI DE SOUZA FILHO

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU-SP
Julho – 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E SENSIBILIDADE DE
ISOLADOS DE *Colletotrichum lindemuthianum* DE FEIJÃO-VAGEM A
FUNGICIDAS**

RONALDO CARAVIERI DE SOUZA FILHO

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Maringoni

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU-SP
Julho – 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Souza Filho, Ronaldo Caravieri de, 1987-
S725c Caracterização fisiológica e sensibilidade de isolados de Colletotrichum lindemuthianum de feijão-vagem a fungicidas / Ronaldo Caravieri de Souza Filho. - Botucatu : [s.n.], 2013
 x, 64 f., il. color., tabs.

 Dissertação(Mestrado)- Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2013
 Orientador: Antonio Carlos Maringoni
 Inclui bibliografia

 1. Feijão comum. 2. Antracnose. 3. Fungicidas. 4. Fungos - Fisiologia. I. Maringoni, Antonio Carlos. II. Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho"(Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. III. Título.

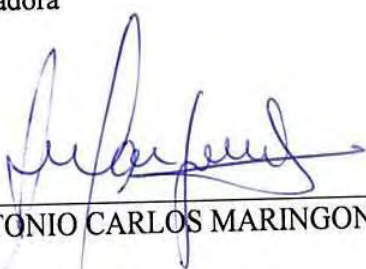
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE
Colletotrichum lindemuthianum DE FEIJÃO-VAGEM A FUNGICIDAS"

ALUNO: RONALDO CARAVIERI DE SOUZA FILHO

ORIENTADOR: PROF. DR. ANTONIO CARLOS MARINGONI

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. ANTONIO CARLOS MARINGONI



PROFA. DRA. MARGARIDA FUMIKO ITO



PROFA. DRA. RENATE KRAUSE SAKATE

Data da Realização: 30 de julho de 2013.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Ronaldo Caravieri de Souza e Ana Fátima Peixoto de Oliveira Souza pelo amor, compreensão, paciência e apoio incondicional durante meus estudos, as minhas irmãs Isabela de Oliveira Souza e Laís de Oliveira Souza pela ajuda, pelo apoio e incentivo e a minha tia Luciana Caravieri de Souza (*in memoriam*) por ter me amado até o último minuto de sua passagem pela vida.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, campus de Botucatu, em especial ao Departamento de Proteção Vegetal, pela valiosa oportunidade de realização desta dissertação;

Ao meu orientador o Professor Dr. Antonio Carlos Maringoni, pela orientação, ensinamentos e amizade;

Aos meus amigos, Tadeu A. F. Silva Jr, José Marcelo Soman, Júlio Cesar da Silva, Maysa Souza Areas e Ricardo Marcelo Gonçalves pela companhia e ajuda prestada neste trabalho;

Aos pesquisadores Dra. Margarida Fumiko Ito e Dr. Alisson Fernando Chiorato, pelos ensinamentos e pelos auxílios prestados;

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Proteção de Plantas), em especial ao Prof. Dr. Carlos Gilberto Raetano e a Profa. Dra. Renate Krause-Sakate, pelos valiosos ensinamentos;

A todos que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	VIII
LISTA DE FIGURAS	X
1. Resumo	1
2. Introdução.....	5
3. Revisão de Literatura.....	7
3.1. Aspectos gerais da cultura do Feijão-vagem	7
3.2. A Antracnose do Feijoeiro	9
3.3. Controle Químico	11
3.4. Resistência de fungos a fungicidas	14
3.5. Raças fisiológicas de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	17
4. Material e Método	20
4.1. Obtenção e preservação de isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem.....	20
4.2. A avaliação de sensibilidade de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> a fungicidas <i>in vitro</i>	21
4.2.1. Crescimento micelial	21
4.2.2. Germinação de esporos.....	21
4.3. Avaliação da sensibilidade de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> a fungicidas <i>in vivo</i>	23
4.4. Determinação de raças de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem	24
5. Resultados e Discussão.....	26
6. Conclusões.....	54
7. Referências Bibliográficas.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> e Municípios de coleta.....	20
Tabela 2. Fungicidas utilizados para avaliação da sensibilidade <i>in vitro</i> de 12 isolados <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão–vagem.	22
Tabela 3. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de 12 isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem a óxido cuproso.....	27
Tabela 4. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de 12 isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem a mancozeb.	28
Tabela 5. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de 12 isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem a tiofanato metílico.	29
Tabela 6. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de 12 isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem a carbendazim.	30
Tabela 7. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de 12 isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem a chlorothalonil.	31
Tabela 8. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de 12 isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem a oxicloreto de cobre + mancozeb. ..	32
Tabela 9. Porcentagem de inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de 12 isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem a piraclostrobina.	33
Tabela 10. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de 12 isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem a metiram + piraclostrobina.	34
Tabela 11. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de 12 isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem a tiofanato metílico + chlorothalonil.	35
Tabela 12. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> a óxido cuproso.....	37
Tabela 13. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> a mancozeb.	38
Tabela 14 Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> a tiofanato metílico.....	38
Tabela 15. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> a chlorothalonil.	38

Tabela 16. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> a piraclostrobina.	39
Tabela 17. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> a carbendazim.	39
Tabela 18. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> a oxicloreto de cobre + mancozeb.	39
Tabela 19. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> a tiofanato metílico + chlorothalonil.	40
Tabela 20. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> a metiram + piraclostrobina.	40
Tabela 21. Severidade de antracnose em folhas primárias destacadas de feijão-vagem cultivar Itatiba II tratadas com diferentes fungicidas e inoculadas com quatro isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	48
Tabela 22. Reação de série diferenciadora de feijão inoculada com isolados de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> de feijão-vagem de diversas localidades do Estado de São Paulo.	52

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. (A) Crescimento micelial do isolado Feij 3149 de *Colletotrichum lindemuthianum* na ausência de fungicidas e (B) crescimento micelial na presença de 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de tiofanato metílico. 36
- Figura 2. (A) Crescimento micelial do isolado Feij 3148 de *Colletotrichum lindemuthianum* na presença de 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de piraclostrobina e na ausência de fungicida (B). 36
- Figura 3. (A) Isolado Feij 3150 na ausência de fungicida, (B) com piraclostrobina. 49
- Figura 4. (A) Suscetibilidade da variedade México 222 ao isolado Feij 3155 de *Colletotrichum lindemuthianum* e (B) resistência das variedades Cornell 49-242 (4), Widusa (5) e Kaboon (6) ao mesmo isolado, obtido de feijão-vagem. 51

1. Resumo

O feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence à mesma família e espécie botânica do feijão comum que é cultivado no Brasil. O feijão-vagem é cultivado em cerca de 100 países, envolvendo grande número de gêneros e espécies. A antracnose incitada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) é uma das doenças mais importantes dessa cultura, pois causa severos danos. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a sensibilidade *in vitro* e *in vivo* de 12 isolados de *C. lindemuthianum* de feijão-vagem, oriundos de diversas localidades situadas no Estado de São Paulo, a fungicidas, bem como determinar as raças fisiológicas desse fungo. A sensibilidade a fungicidas *in vitro* foi determinada através da aferição do crescimento micelial (12 isolados) e da germinação de conídios (4 isolados) em 5 concentrações (0, 1, 10, 100, 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) dos produtos oxiclureto de cobre + mancozeb, chlorotalonil, chlorotalonil + tiofanato metílico, tiofanato metílico, mancozeb, metiram + piraclostrobina, piraclostrobina, óxido cuproso e carbendazim foram adicionados em meio batata - dextrose - ágar (BDA) e determinadas as faixas de ED₅₀. Para a avaliação *in vivo*, folhas primárias de feijão-vagem cultivar Itatiba II foram imersas nas soluções dos fungicidas oxiclureto de cobre + mancozeb (2g/L), chlorotalonil (2g/L), chlorotalonil + tiofanato metílico (3,5g/L), tiofanato metílico (2g/L), mancozeb (4g/L), metiram + piraclostrobina (3g/L), piraclostrobina (0,6ml/L), óxido cuproso (2g/L) e carbendazim (2ml/L), inoculadas separadamente com conídios dos quatro isolados de *C. lindemuthianum*, mantidas em placas de Petri, sob condições controladas e os sintomas da doença foram avaliados com uma escala diagramática de severidade. Os

resultados obtidos evidenciaram que os isolados de *C. lindemuthianum* apresentaram baixa sensibilidade no crescimento micelial aos fungicidas óxido cuproso, mancozeb, tiofanato metílico, carbendazim e oxicloreto de cobre + mancozeb e sensibilidade a chlorothalonil e piraclostrobina; a germinação de conídios dos quatro isolados de *C. lindemuthianum* avaliados apresentaram baixa sensibilidade aos fungicidas óxido cuproso, carbendazim e tiofanato metílico e sensibilidade a mancozeb, chlorothalonil, piraclostrobina, oxicloreto de cobre + mancozeb e metiram + piraclostrobina. A avaliação *in vivo* evidenciou que os fungicidas mancozeb, chlorothalonil, piraclostrobina, mancozeb + oxicloreto de cobre e metiram + piraclostrobina apresentaram melhor eficácia no controle da antracnose. As raças 65 e 81 de *C. lindemuthianum* foram identificadas nos isolados provenientes de várias localidades do Estado de São Paulo.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., antracnose, fungicidas, raças.

PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION AND SENSITIVITY OF ISOLATES OF *Colletotrichum lindemuthianum* TO FUNGICIDES. Botucatu, 2013. 63p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual “Julio de Mesquita Filho” – UNESP.

Author: RONALDO CARAVIERI DE SOUZA FILHO

Adviser: Dr. ANTONIO CARLOS MARINGONI

1.1. SUMMARY

The snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) belongs to the same family and botanical species of common bean that is grown in Brazil. It is a crop planted in about 100 countries around the world, involving a large number of genera and species. The anthracnose incited by *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) is one of the most important diseases of this crop, it causes severe damage. This study aimed to evaluate the sensitivity *in vitro* and *in vivo* to fungicides of 12 isolates of *C. lindemuthianum* from snap beans of various localities in the state of São Paulo, as well as determine the races of this fungus. The sensitivity to fungicides *in vitro* was determined by measuring the mycelial growth (12 isolates) and spore germination (4 isolates) in 5 concentrations (0, 1, 10, 100 and 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) of fungicides oxychloride copper + mancozeb, chlorothalonil, chlorothalonil + methyl thiophanate, methyl thiophanate, mancozeb, metiram + pyraclostrobin, pyraclostrobin, oxide copper and carbendazim were added in potato-dextrose-agar (PDA) and the ED₅₀ interval were determined. For *in vivo* evaluation, primary leaves of snap bean cultivar Itatiba II were immersed in solutions of the fungicides mancozeb + copper oxychloride (2g / L), chlorothalonil (2g / L), chlorothalonil + thiophanate methyl (3.5 g / L), thiophanate-methyl (2g / L), mancozeb (4g / l), metiram + pyraclostrobin (3g / L), pyraclostrobin (0.6 mL / L), cuprous oxide (2 g / L) and carbendazim (2ml / l), conidia of the four isolates of *C. lindemuthianum* were inoculated separately and kept in petri dishes under controlled conditions. Symptoms of the disease were assessed with a diagrammatic severity. The results showed that the isolates of *C. lindemuthianum* from snap-beans presented low sensitivity to fungicides on mycelial growth of copper oxide, mancozeb, methyl thiophanate, carbendazim and oxychloride copper + mancozeb and sensitivity to chlorothalonil and pyraclostrobin, furthermore concerning the germination of conidia, the isolates of *C. lindemuthianum* evaluated showed low sensitivity to fungicides copper oxide, carbendazim and methyl thiophanate

and sensitivity to mancozeb, chlorothalonil, pyraclostrobin, oxychloride copper + mancozeb and pyraclostrobin + metiram. The results of *in vivo* evaluation showed that preventive application of mancozeb, chlorothalonil, pyraclostrobin, mancozeb + oxychloride copper and metiram + pyraclostrobin was effective in anthracnose control on detached primary leaves of snap bean cultivar Itatiba II. The races 65 and 81 were identified in isolates of *C. lindemuthianum* from various locations in the State of São Paulo.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L., anthracnose, fungicides, races.

2. Introdução

O gênero *Phaseolus* compreende aproximadamente 55 espécies, dentre elas *Phaseolus vulgaris* L., o feijoeiro comum (grãos). O feijão-vagem, feijão-de-vagem ou simplesmente vagem, é planta anual, muito difundida em diversas regiões brasileiras. Trata-se de uma hortaliça da mesma espécie botânica do feijoeiro comum e caracteriza-se por ser colhida quando as vagens estão verdes. O feijão-vagem destaca-se como fonte de fibras e sais minerais na dieta da população brasileira de várias regiões do país (FILGUEIRA, 2008).

De acordo com o Instituto de Economia Agrícola do Estado de São Paulo (IEA), a área cultivada de feijão-vagem no Estado de São Paulo, em 2012, atingiu 1.285,57 ha, queda de 18,4% em relação a 2011, apresentando uma produção de 1.379.356,05 caixas de 19 Kg, decréscimo de 15% em comparação com 2011. A produtividade média em São Paulo, no ano de 2012, ficou em 1073 caixas de 19 Kg por hectare. Destacam-se como maiores produtores no Estado de São Paulo, os municípios de Itapeva, Sorocaba, Campinas e Bragança Paulista (IEA, 2013).

O feijão-vagem é suscetível a várias doenças, semelhante ao feijão comum. A antracnose, causada por *Colletotrichum lindemuthianum*, é uma importante doença para a cultura, pois além de afetar as folhas, ocorre em vagens, o que prejudica a produção e a qualidade do produto colhido para comercialização.

O controle dessa doença pode ser feito com a adoção de diversas medidas, dentre elas o uso de sementes saudáveis, rotação com culturas não hospedeiras, incorporação de restos culturais, época de cultivo, utilização de cultivares resistentes e o controle químico.

A utilização do controle químico é em muitas situações, a única forma eficiente de controle para diversos problemas fitossanitários. Os fungicidas possuem as mais diversas vantagens em detrimento aos demais métodos de controle de doenças em plantas, dentre essas vantagens os resultados imediatos bem como a facilidade de sua aplicação, tornam sua utilização amplamente difundida. No caso da antracnose, em algumas situações, a aplicação de fungicidas é a forma mais eficaz de controle da doença, isso se deve pela transmissão do patógeno por sementes e pela alta taxa de progresso da doença em condições climáticas favoráveis em campo (GHINI; KIMATI, 2000).

Especificamente para feijão comum, têm-se o conhecimento da ineficácia, em algumas regiões, do controle da antracnose com fungicidas do grupo dos benzimidazóis devido à seleção de populações resistentes de *C. lindemuthianum* (MEYER, 1976), como por exemplo o benomyl, o tiofanato metílico e o carbendazim (BALARDIN; RODRIGUES, 1995; RAVA et al. 1998; MARINGONI; BARROS, 2002; SARTORATO, 2006; SARTORI; MARINGONI, 2007).

Além do controle químico, outra medida que poderia ser incrementada é a utilização de cultivares de feijão-vagem resistentes à antracnose. No Brasil, não há especificações de cultivares resistentes utilizados pelos agricultores e nem o conhecimento das raças fisiológicas desse fungo que ocorrem nessa olerícola. É sabido, no entanto, para feijão comum a ocorrência das raças 23; 31; 65; 73; 81; 87; 89; 95 e 127 de *C. lindemuthianum* no Estado de São Paulo, o que direciona o programa de melhoramento genético da cultura, para a incorporação de resistência às raças predominantes (CARBONELL et al., 1999).

É importante o conhecimento da sensibilidade *in vitro* e *in vivo* de isolados de *C. lindemuthianum* a diferentes grupos químicos de fungicidas, pois, dessa forma, é possível evitar a aplicação daqueles produtos que apresentarem baixa ação, além de prevenir a pressão de seleção para a resistência. Também o conhecimento de raças desse fungo pode nortear o melhoramento genético da cultura, visando à incorporação de resistência específica em cultivares de feijão-vagem suscetíveis.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a sensibilidade *in vitro* e *in vivo* de isolados de *C. lindemuthianum*, provenientes de feijão-vagem de várias localidades do Estado de São Paulo a vários fungicidas de diferentes grupos químicos e determinar a(s) raça(s) fisiológicas desse fungo.

3 . Revisão de Literatura

3.1. Aspectos gerais da cultura do Feijão-vagem

O feijão-vagem destaca-se entre as hortaliças mais populares, ocupando a décima terceira posição em importância econômica e sexta em volume produzido no país (RAMALHO, 2003).

Dentre as hortaliças com maior volume de comercialização, o feijão-vagem atinge cerca de 6000 toneladas por ano. A comercialização é feita durante todos os meses do ano, sendo julho, agosto, setembro e outubro os meses de menor oferta do produto. A produção destina-se ao consumo *in natura*, sendo pequeno o volume industrializado. O feijão-vagem pertence à mesma família e espécie botânica do feijão comum, pois trata-se de uma cultura anual, herbácea, que apresenta caule volúvel, não necessitando de amarrão. O caule pode apresentar crescimento dos tipos indeterminado e determinado. Em grande maioria, o feijão-vagem plantado para consumo humano se encontra no grupo das cultivares de hábito indeterminado (FILGUEIRA, 2008).

O feijão-vagem é uma olerícola cultivada em cerca de 100 países em todo o mundo, envolvendo grande número de gêneros e espécies (ARAÚJO et al., 1996) Apesar de não ser rica em proteínas e calorias como os grãos secos, é rica em vitaminas e sais minerais, que faltam na maioria dos alimentos (PEIXOTO et al., 1997)

Da mesma forma que o feijoeiro comum, o feijão-vagem é cultura de ampla adaptação a climas quentes e amenos, dentro de uma faixa térmica de 18 a 30°C

(Filgueira, 2008), no entanto, é intolerante a fatores extremos do ambiente. Temperaturas elevadas ocasionam significativa redução da produtividade na fase vegetativa inicial, podendo causar morte das plântulas e, conseqüentemente, redução do estande. Na fase de intenso crescimento vegetativo, o calor excessivo aumenta a fotorespiração, reduzindo a taxa de crescimento das plantas (MARIOT, 2000). Durante a fase reprodutiva, altas temperaturas exercem influência sobre o aborto de flores, vingamento e retenção final das vagens (ANDRADE, 1998). No período entre a diferenciação dos botões florais até o enchimento dos grãos, as altas temperaturas reduzem o número de vagens por planta, devido à esterilização do grão de pólen e, conseqüentemente, a queda das flores (Mariot, 2000).

Assim como para temperaturas excessivas, o feijão-vagem é uma das hortaliças mais intolerantes ao frio e a geadas (FILGUEIRA, 2008). As baixas temperaturas, quando ocorrem logo após a semeadura, podem impedir, reduzir ou atrasar a germinação das sementes e a emergência das plântulas, resultando em baixa população e baixa produtividade. Durante o crescimento vegetativo reduzem a altura das plantas e ramos, diminuindo a produção de vagens por planta (ANDRADE, 1998). Temperaturas inferiores a 15°C inviabilizam o funcionamento normal dos órgãos reprodutivos. Na faixa de 2 a 10°C, as plantas reduzem a produção de biomassa e retardam o desenvolvimento, devido às alterações metabólicas provocadas pelo esfriamento. O esfriamento do solo também pode facilitar o apodrecimento das sementes promovendo queda no estande (FILGUEIRA, 2008). A ocorrência de geadas causa injúrias por congelamento nos tecidos, sendo prejudicial em qualquer estágio de desenvolvimento das plantas (MARIOT, 2000).

Em localidades onde as condições climáticas não permitem o plantio de feijão-vagem durante o ano todo em condições naturais de campo, o cultivo é realizado sob proteção. A vulnerabilidade da cultura em relação às faixas extremas de temperatura também foi comprovada por Dourado Neto e Fancelli (2000). Em função da expansão das áreas cultivadas no Brasil e do cultivo sucessivo, principalmente em áreas irrigadas, há uma maior contribuição para o aumento e disseminação dos patógenos. Além de ser suscetível a inúmeras doenças que diminuem a produtividade da cultura e podem depreciar a qualidade do produto (FARIA et al., 2008).

3.2. A Antracnose do Feijoeiro

A antracnose, incitada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.), é considerada uma das doenças mais importantes e graves que acometem a cultura do feijão no Brasil. É uma doença de ampla distribuição, sendo encontrada em praticamente todos os países produtores. Sua presença já foi relatada em cinco continentes, Europa, Ásia, África e América e na Austrália. No Brasil, ocorre nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Espírito Santo, Alagoas, Sergipe e Paraíba. Essa ampla abrangência deve-se ao uso de cultivares suscetíveis em regiões com temperaturas amenas, variando de 13 a 26°C e alta umidade (DALLA PRIA; SILVA, 2010).

Trata-se de uma doença muito destrutiva que pode causar perdas tanto pelo número de plantas afetadas, como pelas perdas ocasionadas nas vagens que danificam a qualidade do produto final (BIDDLE; CATTILIN, 2007).

A antracnose pode provocar redução de até 100% na produção, principalmente se forem utilizadas sementes infectadas pelo fungo durante a semeadura. Quanto mais precoce o aparecimento da doença na lavoura, maiores serão os danos causados (CRISPÍN et al., 1976; CHAVES, 1980).

Os sintomas da antracnose ocorrem em toda a parte aérea da planta. As lesões formadas no hipocótilo podem atingir tamanho considerável, iniciando-se por uma mancha diminuta que evolui gradualmente no caule, no sentido longitudinal. Finalmente, as lesões tornam-se deprimidas e de coloração marrom escura (CRISPÍN et al., 1976; CHAVES, 1980).

As lesões comumente aparecem em maior quantidade nos pecíolos, na superfície abaxial das folhas e nas nervuras. As lesões características, de coloração marrom-escura ou parda, são observadas ao longo das nervuras da face abaxial da folha. Em caso de infecções severas, as lesões podem ser observadas na face superior das folhas, quando uma região amarelecida se desenvolve ao lado das manchas necróticas e as folhas tendem a se curvar para baixo (DALLA PRIA; SILVA, 2010). No entanto, a antracnose é reconhecida mais facilmente nas vagens, onde os sintomas são bem definidos. Nestas, as lesões são arredondadas, deprimidas, de tamanho variável, apresentando o centro claro, delimitado por um anel negro levemente protuberante e geralmente rodeado por um bordo de coloração café-avermelhada. Quando as condições de umidade e temperatura são

favoráveis, forma-se uma massa de esporos de coloração rosada no centro das lesões. A esporulação também pode ocorrer em lesões nos pecíolos e nervuras principais (RAVA; SARTORATO, 1994).

Colletotrichum lindemuthianum sobrevive de uma estação para outra em restos culturais e pode ser disseminado a longas distâncias pela semente e a curta distância, pelos respingos de água de chuva. O homem pode distribuir o patógeno ao caminhar por entre as plantas úmidas, que podem conter uma massa gelatinosa de esporos imersa em respingos de água (RAVA; SARTORATO, 1994; DALLA PRIA; SILVA, 2010).

Colletotrichum lindemuthianum, cuja fase perfeita corresponde a *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli* que pertence à subdivisão Deuteromycotina (BIANCHINI et al., 1997). O micélio é ramificado, septado e sua coloração, à medida que envelhece, varia de hialina a quase negra. Os conídios são hialinos, unicelulares, oblongos a cilíndricos, apresentando as extremidades arredondadas ou uma delas pontiaguda. Normalmente, apresentam na parte central uma área clara semelhante a um vacúolo. A massa de esporos formada nos acérvulos possui coloração rósea. Os conidióforos são hialinos, eretos e sem ramificações. Os acérvulos possuem setas, encontradas no hospedeiro, que são produzidas entre os conidióforos ou nas margens dos acérvulos, são pontiagudas, rígidas, septadas e de coloração castanha (RAVA; SARTORATO, 1994; BIANCHINI et al., 1997).

Os conídios que chegam a atingir a área foliar podem germinar entre seis e nove horas em condições de ambiente favorável para o desenvolvimento da doença, formando de um a quatro tubos germinativos e apressório. O fungo se prende à superfície do hospedeiro pela sua camada gelatinosa. A penetração ocorre de forma direta pela pressão exercida pelo apressório do fungo na região da epiderme e cutícula. Hifas infectivas crescem entre a parede celular e o protoplasto durante um período de dois a quatro dias. Após vários dias, as células da parede são degradadas pela ação de enzimas específicas, levando ao surgimento de lesões (DALLA PRIA; SILVA, 2010).

A esporulação e a infecção do hospedeiro são favorecidas por temperaturas entre 13 e 27°C, com ótimo em 17°C. Para incubação e subsequente germinação de conídios é necessária umidade relativa superior a 92% ou água livre. Temperaturas superiores a 30°C e inferiores a 6°C são limitantes tanto para a infecção

quanto para o desenvolvimento do fungo e conseqüentemente desenvolvimento da doença (HALL, 1994; RAVA; SARTORATO, 1994; DALLA PRIA; SILVA, 2010).

Existem várias alternativas para o controle da antracnose, dentre essas, destacam-se as práticas culturais, o uso de controle químico e a resistência varietal.

A eliminação de restos culturais, rotação de cultura, utilização de sementes de boa qualidade sanitária e a escolha da época certa de plantio são práticas culturais que são comumente utilizadas pelos agricultores. Devido à transmissão do patógeno via semente, a utilização de sementes de boa qualidade sanitária apresenta melhor resultado no controle da doença.

A utilização de cultivares resistentes mostra-se a forma mais prática e menos onerosa para os produtores, entretanto, a imensa variabilidade patogênica do fungo torna por muitas vezes quase que obrigatória a utilização de produtos químicos para o controle efetivo da doença (RAVA, 2002).

3.3. Controle Químico

Apesar do desenvolvimento das mais diversas ferramentas para o controle da antracnose do feijoeiro, o controle químico possui um relevante papel no manejo da antracnose, como tratamento de semente e pulverização da parte aérea. A maioria dos trabalhos de controle químico dessa doença foram realizados para feijão comum e não para feijão-vagem.

Em estudos sobre tratamento de sementes, Vechiato et al. (2001) observaram que os fungicidas iprodione + carbendazim, carbendazim + thiram, iprodione + thiram e thiram, reduziram significativamente o número de plântulas de feijão com sintomas de antracnose nos cotilédones, após o tratamento de sementes feitos com os respectivos produtos.

Sharma e Sugha (1995), ao utilizarem carbendazim + thiram, em um experimento de campo onde sementes de feijão foram tratadas com diversos fungicidas, visando controle de *C. lindemuthianum*, verificaram que esta mistura e carbendazim foram as mais efetivas no controle do patógeno.

Pires et al. (2004) concluíram que sementes tratadas com captan mostraram menor vigor, principalmente após dois meses de armazenamento, em relação às sementes tratadas com benomyl e carbendazin. Contudo, esta diferença não foi verificada

na germinação. Bacon e Clayton (1986) obtiveram resultados similares em sementes de cevada.

Barros et al. (2001) ao utilizarem os fungicidas fludioxonil, difenoconazole e carboxin associados ao inseticida thiamethoxam, reduziram a população de fungos, comprovando que os resultados obtidos sugerem que o inseticida thiamethoxam é inteiramente compatível com os fungicidas utilizados no tratamento de sementes do feijoeiro.

Trabalhos realizados sobre a avaliação de produtos químicos têm mostrado eficiência no controle da antracnose na parte aérea das plantas. Garcia et al. (2007) verificaram a produtividade de feijão média de 1006 kg/ha nas parcelas pulverizadas com tiofanato metílico + chlorothalonil, enquanto nas parcelas não pulverizadas a produtividade média foi de 662 kg/ha, significativamente inferior confirmando a eficiência da pulverização no controle da antracnose. O mesmo fato foi constatado por Dario et al. (1995); Gianasi et al. (2002); Rava (2002); Oliveira (2003) que também obtiveram resultados semelhantes. Oliveira (2003) ainda registra que a parcela pulverizada com o fungicida obteve uma produtividade 59% superior à testemunha não pulverizada.

Picinini & Fernandes (2000), utilizando benomyl, carbendazin e tiofanato metílico em mistura com chlorothalonil chegaram a resultados eficazes no controle da antracnose em folhas e vagens do feijoeiro.

Gianasi (2002) utilizou trifenil acetato de estanho e obteve menores porcentagens de severidade da doença em condições de campo, no entanto, não foi observado incremento no desenvolvimento da planta como o autor esperava encontrar. Bashir et al. (1985) ao avaliarem os fungicidas benomyl, chlorothalonil, tiabendazol e carbendazim em duas variedades de feijão (6601 e M-19-19) no controle da antracnose, relataram que os fungicidas benomyl, chlorothalonil e tiabendazol foram os mais eficientes no controle da doença.

Conner et al. (2004) observaram que piraclostrobina apresentou bons níveis de controle da antracnose do feijoeiro e alta produtividade, quando aplicada no período de pré-floração e término do florescimento. Gillard et al. (2012) encontraram resultados semelhantes ao testarem o melhor momento para a aplicação de piraclostrobina no controle da antracnose.

Oliveira (2003) verificou que a antracnose pode ser controlada com a utilização de o trifenil hidróxido de estanho de forma isolada, ou em mistura a outros princípios ativos como carbendazim, fluquinconazole, azoxystrobina ou propiconazol.

Bulisani et al. (1987) conduziram um experimento de campo testando a eficiência dos fungicidas mancozeb e chlorothalonil pulverizados sob as cultivares Carioca 80, Aroana 80, Aysó, Moruna 80, Carioca, Rio Negro, Carioca Pitoco e Rosinha IAC e obtiveram menor incidência de antracnose, garantindo assim produtividade semelhante entre as cultivares testadas. Resultados semelhantes foram encontrados por Castro et al. (1991), que, ao testarem os fungicidas benomyl, mancozeb, tiofanato metílico, captofol, chlorothalonil, trifenil estanho, carbendazin, oxiclureto de cobre, sulfato de cobre e hidróxido de trifenil estanho, registraram baixa incidência de antracnose em comparação com outras doenças como ferrugem e ataques de *Alternaria*.

Santini et al. (2005), na avaliação *in vitro*, encontraram que a maior inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum* foi proporcionada pelo acaricida azocyclotin a $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, seguido dos tratamentos com azocyclotin a $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e trifenil hidróxido de estanho a $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, que diferiram da testemunha. Por esses resultados, verificou-se que o azocyclotin apresentou melhores resultados do que o trifenil hidróxido de estanho no controle de *C. lindemuthianum*, *in vitro*, indicando a possibilidade de controle *in vivo*.

Rava et al. (1998) ao avaliarem o efeito dos fungicidas benomyl, fluazinan, chlorothalonil e mancozeb, *in vitro* sobre *C. lindemuthianum*, observaram que o fluazinan foi o que apresentou a maior inibição do crescimento micelial diferindo dos demais tratamentos; o oposto do que foi obtido por Balardin e Rodrigues (1995), que constataram maior redução do crescimento micelial ao utilizarem produtos de ação sistêmica. De acordo com Rava et al. (1998), o benomyl apresentou a segunda maior inibição no diâmetro das colônias, porém o mesmo não se encontra mais no mercado por motivo de teratogenia.

Sartorato (2006) avaliou a sensibilidade de oito isolados de *C. lindemuthianum*, *in vitro*, aos fungicidas tiofanato metílico + chlorothalonil, tiofanato metílico, fluazinan, chlorothalonil, trifloxystrobin + propiconazol, piraclostrobina, difenoconazole e trifenil hidróxido de estanho, observou que todos diferiram significativamente da testemunha. Os princípios ativos tiofanato metílico + chlorothalonil apresentaram um controle significativamente superior a tiofanato metílico, em ambas as

doses $750 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, para a maioria dos isolados. Apenas dois isolados apresentaram alta sensibilidade ao tiofanato metílico. Maringoni e Barros (2002) obtiveram resultados semelhantes a esse quando observaram que todos os isolados de *C. lindemuthianum* testados apresentaram baixa sensibilidade a benomyl, carbendazin e tiofanato metílico.

Sartori e Maringoni (2007) encontraram maiores porcentagens de inibição de crescimento micelial de *C. lindemuthianum* com a mistura de fungicidas propiconazol e tryfloxistrobin, que inibiu o crescimento de 15 isolados a $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$, ocorrendo crescimento micelial de apenas um isolado, na concentração de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, em 20 isolados avaliados. Entretanto nove dos 20 isolados de *C. lindemuthianum* avaliados foram menos sensíveis aos fungicidas carbendazin e tiofanato metílico e um isolado (I-12) teve menor sensibilidade à tryfloxistrobin.

Por ser destinado a consumo *in natura*, existem algumas limitações quanto ao uso de produtos químicos em feijão-vagem, em função do tempo de permanência (resíduo) nas vagens. De modo geral, todos os fungicidas recomendados para feijão-vagem possuem 14 dias como intervalo de segurança, com exceção dos fungicidas cúpricos e mancozeb em que esse intervalo se reduz para sete dias. Por esse motivo, não é recomendado na cultura o uso de organoestânicos, visto que esse grupo de fungicida pode permanecer até 30 dias na cultura (AGROFIT, 2011)

Atualmente no Brasil, para feijão-vagem, há registro no MAPA dos seguintes princípios ativos óxido cuproso, mancozeb + oxiclreto de cobre, mancozeb e tiofanato metílico, visando o controle da antracnose, via pulverização. Já para feijão comum, há cerca de 28 princípios ativos ou de suas misturas para esse fim (AGROFIT, 2011).

3.4. Resistência de fungos a fungicidas

Por cerca de 35 anos a área agrícola enfrenta problemas decorrentes da seleção de populações de fungos fitopatogênicos a diversos grupos de fungicidas utilizados no controle de doenças. Desde os primeiros casos de resistência, fabricantes de defensivos, cientistas, acadêmicos e governos tem reunido esforços para entender esse fenômeno e estabelecer medidas que possam solucionar o problema (BRENT; HOLLomon, 1995).

Durante vários anos de uso de um fungicida, as populações do patógeno-alvo podem se tornar não mais sensíveis para serem controladas adequadamente. Isso geralmente ocorre como resposta ao uso repetido do fungicida, ou para o uso repetido de outro produto quimicamente ou bioquimicamente relacionado através de um mecanismo de ação similar (BRENT; HOLLOMON, 1995).

Atualmente, estudos têm comprovado a possível seleção de vários fungos fitopatogênicos resistentes aos mais diversos grupos químicos de fungicidas. Conforme estudo de monitoramento realizado anualmente pelo FRAC, para *C. lindemuthianum* encontra-se registro de resistência apenas para os fungicidas do grupo dos benzimidazóis, relatados pioneiramente por Meyer (1976).

Maringoni e Barros (2002) avaliando a sensibilidade do crescimento micelial de cinco isolados de *C. lindemuthianum* aos fungicidas benomyl, carbendazin, tiofanato metílico e chlorothalonil, constataram a baixa sensibilidade dos isolados fúngicos aos fungicidas benzimidazóis, levantando assim, a hipótese de resistência cruzada.

Sartori e Maringoni (2007) relataram que o tiofanato metílico inibiu totalmente ou parcialmente o crescimento micelial de 11 isolados de *C. lindemuthianum*, quando tratados com a faixa de concentração inferior a $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$, no entanto, no mesmo estudo os autores citam que oito isolados de 20 avaliados apresentaram baixa sensibilidade a tiofanato metílico mesmo quando expostos a $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ do fungicida.

Gulart (2009) ao avaliar as raças de *C. lindemuthianum* em feijão comum encontraram baixa sensibilidade da raça 65 e moderada sensibilidade das raças 08, 81 e 321 ao carbendazin e moderada sensibilidade da raça 337 ao tiofanato metílico.

Koski (2001) registrou que os fungicidas benomyl, iprodione e tiofanato metílico apresentaram menor inibição do crescimento micelial de isolados de *C. acutatum* do que outros fungicidas como folpet, sulfato de cobre e chlorothalonil e mancozeb. Domingues et al. (2001) ao avaliarem iprodione em isolados de *Botrytis cinerea* também perceberam resistência de alguns isolados daquele fungo ao fungicida.

Hamada et al. (2009) mostraram em seu trabalho que todos os isolados de *C. acutatum* avaliados mostraram-se pouco sensíveis ao benomyl.

Fernandes et al. (2001) detectaram inibição significativa, quanto ao crescimento micelial, entre isolados de *C. gloeosporioides* em função do aumento da

concentração do fungicida benomyl adicionado ao meio de cultura. O benomyl, todavia, não inibiu o crescimento micelial dos isolados, ainda que a concentração fosse $1000 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$, sendo assim, pode-se dizer que o fungo apresentou resistência ao fungicida. Diferentemente do que foi verificado por Haddad et al. (2003), que não detectaram resistência dos isolados de *C. gloeosporioides* ao benomyl, em condições de campo, para cebola, assemelhando-se aos resultados obtidos por Shabi et al. (1994), que ao trabalharem com isolados provenientes de frutos de abacateiro, relataram que os mesmos foram mais sensíveis aos fungicidas benzimidazóis.

Santos et al. (2006) ao abordarem o uso de fungicidas benzimidazóis no controle do fungo *Didymella bryoniae* em melancia consideraram que estes não devem ser utilizados no controle do cretamento gomoso do caule, devido à baixa sensibilidade apresentada por aquele fungo quando exposto ao fungicida. No mesmo estudo, o autor constatou que o patógeno também apresentou resistência à mistura tiofanato metílico + chlorothalonil.

Para a cultura do mamoeiro, Pereira (2009) revelou que a resposta de sensibilidade variou de acordo com o fungicida, porém para os benzimidazóis, 8,4% dos isolados de *Lasiodiplodia theobromae* não tiveram o crescimento inibido na maior concentração avaliada, que foi de $100 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$.

Silva e Coelho (2003), avaliando o efeito dos fungicidas benomyl, procimidone e thiabendazole sobre o crescimento micelial de dois isolados de *Botrytis cinerea*, causador do tombamento de mudas de *Eucalyptus*, observaram que um isolado foi resistente ao benomyl, contrastando com o outro isolado analisado que apresentou alta sensibilidade ao produto. Para os produtos procimidone e thiabendazole, o autor registrou controle satisfatório para todas as doses utilizadas.

La Mondia e Douglas (1997) ao testarem a sensibilidade de 45 isolados de *Botrytis cinerea* aos fungicidas benzimidazóis e dicarboximida, constataram que 75% destes apresentaram resistência aos fungicidas benzimidazóis, enquanto que 19 isolados foram resistentes aos dois grupos de fungicidas.

Rodrigues et al. (2007) observaram que 7,5% dos isolados de *Guignardia citricarpa* testados apresentaram resistência ao fungicida carbendazim, sob condições de campo, o que pode indicar o início de uma pressão de seleção. Ainda no mesmo estudo, o autor relata que não houve problemas em relação ao uso do fungicida piraclostrobina, que diferentemente de carbendazim apresentou resultados satisfatórios.

Esse resultado contrasta com relatos pioneiros do surgimento de resistência para fungicidas do grupo das estrobilurinas feitos por Avila-Adam et al. (2003) e Ishii (2008) para os patógenos *C.graminicola* e *C.gloeosporioides*.

Estudos recentes comprovam o possível aparecimento de resistência a fungicidas do grupo das estrobilurinas, pois Vieira (2009) registrou isolados de *Venturia inaequalis* resistentes a trifloxistrobina.

Kimura et al. (2001) registraram resistência de *Botrytis cinerea* ao benomyl e insensibilidade ao fungicida azoxistrobina, fungicida que pertence ao grupo das estrobilurinas.

Bezerra (2007) avaliou o efeito dos fungicidas azoxistrobina e carbendazim sobre germinação de esporos *in vitro* de *Amphobotrys ricini*. O carbendazim não impediu a germinação dos esporos dos isolados testados em nenhuma das concentrações utilizadas. Já para o azoxistrobina, com apenas 0,001 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, houve um pequeno declínio na germinação de esporos. À medida que aumentou a concentração de azoxistrobina, menor foi a germinação de esporos, chegando a menos de 2% de germinação, na concentração de 10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Para alguns fungicidas o risco de desenvolvimento de resistência é menor. É o caso daqueles com ação multisítio, que devido ao largo espectro de ação possuem menor probabilidade de seleção dos fungos ao grupo químico.

Nesta dissertação, alguns fungicidas se enquadram neste grupo, é o caso do chlorothalonil, do mancozeb e de metiram. Oficialmente há em literatura apenas um estudo catalogado pelo FRAC que relata a possível existência de resistência para esses fungicidas. Barak e Edgington (1984) registram a existência de resistência cruzada de *Botrytis cinerea* ao chlorothalonil, thiram e captan.

Outro grupo analisado neste estudo são o dos fungicidas inorgânicos, para estes há o exemplo do relato de Goto et al. (1994) que constataram a resistência de alguns gêneros bacterianos aos fungicidas cúpricos.

3.5. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum*

O estudo de raças fisiológicas de *C. lindemuthianum* está ligado ao começo da análise genética da patogenicidade dos fungos. Antes da constatação da

especialização fisiológica de agente causal da antracnose, não se dava a devida atenção a esse aspecto dentro de qualquer espécie de fungo fitopatogênico (KIMATI, 1966).

Barrus (1911 e 1918) foi o primeiro autor a estudar a variabilidade de *C. lindemuthianum* e em seu trabalho o autor identificou duas raças distintas do patógeno (alpha e beta), baseado na reação deste as cultivares Michelite, Perry Marrow e Dark Red Kidney. Posteriormente, Burkholder (1918) identificou a raça gama, Andrus e Wade (1942) reportaram a presença da raça delta, Blondet (1963) foi o descritor da raça épsilon. Kruger et al. (1977) registrou a presença da raça kappa e por fim Fouiloux (1975), constatou a presença da raça alpha-Brasil.

No Brasil, o pioneiro em estudos sobre raças de fisiológicas de *C. lindemuthianum* foi Kimati (1966), que em um trabalho de mapeamento de ocorrências de raças do Estado de São Paulo, identificou as raças alpha, delta e Mexico grupo II. No Paraná, Araujo (1973) registrou a presença da raça alpha. As raças alpha, México grupo II e Brasil grupo I e II foram identificadas em Minas Gerais por Oliari et al. (1973).

No entanto, de acordo com Paradela Filho (1991), os estudos de variabilidade baseando-se apenas na utilização de três cultivares diferenciais (Michelite, Perry Marrow e Dark Red) já não era mais confiável em virtude da intensa variação patogênica apresentada pelo agente causal da antracnose do feijoeiro.

Após a admissão de que era necessário um maior número de cultivares diferenciais para a continuação dos estudos sobre variabilidade patogênica, Pastor-Corrales (1991), recomendou a utilização de uma série diferencial de 12 cultivares que se mostrou uma fonte valiosa para estudos das raças fisiológicas de *C. lindemuthianum*. A partir desse estudo houve a padronização e a criação de uma escala binária de avaliação de sintomas de acordo com a severidade da antracnose, que proporcionou a descrição de novas raças e de novas fontes de resistência para as mesmas.

Tu (1994) registrou a primeira ocorrência da raça alpha-Brasil em solo canadense, no mesmo ano Kelly et al. (1994) relataram a presença também inédita das raças 7 e 73 em Michigan, Estados Unidos, utilizando a inoculação na sequência diferencial de cultivares. Já Rodrigues-Guerra et al. (2003) detectaram a presença das raças 449 e 467 no México.

Mahuku e Riascos (2004) realizaram levantamento em vários países, identificando 90 raças entre os 200 isolados amostrados. Foram identificadas as raças 3481, 3545, 3977 e 3993. Neste levantamento todas as cultivares diferenciadoras

mostraram-se suscetíveis ao patógeno. Por essa razão, Silva (2004) propõe que a utilização do conjunto diferenciador composto das 12 cultivares definido por Pastor-Corrales (1991) já não é suficiente para caracterizar a variabilidade presente em *C. lindemuthianum*.

No Brasil, Balardin et al. (1990), identificaram das raças 7; 55; 65; 73; 75; 81; 86; 87; 89; 95; 109; 111; 121; 217 e 249 no Estado de Santa Catarina, Rava et al. (1994) no mesmo Estado caracterizou a raça 55. Thomazella et al. (2000) registrou a presença dos patótipos 7; 31; 65; 69; 73; 81; 87; 89 e 95 no Estado do Paraná. No mesmo Estado, Bonett et al. (2008) identificaram as raças 52; 83 e 337 pela primeira vez.

Mesquita et al. (1998) identificaram as raças 64; 65 e 73 em genótipos provenientes do Estado de Goiás, através do uso de marcadores moleculares.

Ao realizar um levantamento em oito regiões produtoras de feijão do Rio Grande do Sul, Somavilla e Prestes (1999) relataram a ocorrência de onze raças do patógeno (5; 23; 64; 65; 67; 73; 81; 83; 87; 89 e 321) e evidenciaram a ocorrência pioneira da raça 321 no Estado.

Para o Estado de São Paulo, trabalhos de Carbonell et al. (1999) revelaram a presença das raças 23; 31; 65; 73; 81; 87; 89; 95 e 127 de *C. lindemuthianum*, em isolados procedentes de várias localidades do Estado, com predominância das raças 65; 81 e 89.

Abud et al. (2011) ao estudarem 1189 isolados coletados em vários estados brasileiros como Bahia, Santa Catarina, Goiás, Rio Grande do Sul, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Pernambuco, Paraíba, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal e Rio de Janeiro, encontraram quatro raças de *C. lindemuthianum* com maior frequência: 65; 73; 81 e 87.

Normalmente, os estudos de caracterização de raças de *C. lindemuthianum* no Brasil e no exterior não especificam claramente a origem dos isolados quanto ao hospedeiro (feijão comum ou feijão-vagem), sendo assim necessário estudo sobre a identificação de raças desse fungo em feijão-vagem no Brasil, que podem nortear o cruzamento de fontes específicas de resistência, no programa de melhoramento genético dessa hortaliça, visando à incorporação de genes de resistência em cultivares suscetíveis a antracnose.

4. Material e Método

4.1. Obtenção e preservação de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem

Os isolados de *C. lindemuthianum* utilizados nesse estudo (Tabela 1) foram obtidos através de isolamento direto, em que pequenas porções de conídios de *C. lindemuthianum* presentes em vagens sintomáticas, foram transferidas com auxílio de uma alça de platina esterelizada, para placas de Petri contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA). Os isolados de *C. lindemuthianum*, após purificados, foram preservados pelo método descrito por Castellani (1939).

Tabela 1. Isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* e Municípios de coleta

Isolado	Municípios (SP)
Feij 3147	Jaú
Feij 3148	Campinas
Feij 3149	Botucatu
Feij 3150	Morungaba
Feij 3151	Botucatu
Feij 3152	Botucatu
Feij 3153	Botucatu
Feij 3154	Itatiba
Feij 3155	São Paulo
Feij 3156	São Manuel
Feij 3157	Vinhedo
Feij 3158	Botucatu

4.2. A avaliação de sensibilidade de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas *in vitro*

4.2.1. Crescimento micelial

Foi avaliada *in vitro* a sensibilidade de 12 isolados de *C. lindemuthianum* de feijão-vagem (Tabela 1), a diferentes concentrações de fungicidas. Os fungicidas oxicloreto de cobre + mancozeb, chlorothalonil, chlorothalonil + tiofanato metílico, tiofanato metílico, mancozeb, metiram + piraclostrobina, piraclostrobina, óxido cuproso e carbendazim (Tabela 2), foram avaliados nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, em meio de cultura BDA. Os fungicidas foram adicionados ao BDA quando este atingiu a temperatura de 45 - 50°C, após a autoclavagem. O tratamento testemunha foi representado por BDA, sem adição de fungicida.

Discos de micélio dos isolados fúngicos foram retirados da periferia de colônias, com 10 dias de idade, cultivadas em meio BDA, a 25°C, e transferidos para o centro de placas de Petri contendo as concentrações de fungicidas. As placas assim preparadas permaneceram incubadas a 25°C, por 10 dias, sendo posteriormente aferidos os diâmetros médios das colônias (em mm) e calculada a porcentagem de inibição perante a testemunha.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Foi determinada a faixa de inibição de 50% do crescimento micelial (ED_{50}) para cada um dos isolados fúngicos aos diferentes fungicidas ensaiados.

4.2.2. Germinação de esporos

Para avaliar a sensibilidade da germinação de conídios de *C. lindemuthianum*, o preparo do meio BDA foi idêntico ao descrito no item 4.2.1. Foram selecionados os isolados Feij 3147, Feij 3150, Feij 3155 e Feij 3158 por apresentarem diferentes níveis de sensibilidade do crescimento micelial, aos produtos mancozeb e a mistura tiofanato + chlorotalonil.

Tabela 2. Fungicidas utilizados para avaliação da sensibilidade *in vitro* de 12 isolados *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão–vagem.

Princípio ativo	Produto Comercial	Concentração de i.a no produto comercial (%)	Formulação	Grupo químico
Óxido cuproso	Redshield 750	86 i.a	Pó molhavel	Inorgânico
Mancozeb	Dithane NT	80 i.a	Pó molhavel	Ditiocarbamato
Tiofanato metílico	Cercobin SC	70 i.a	Suspensão Concentrada	Benzimidazol
Mancozeb + oxicloreto de cobre	Cuprozeb	44 + 33 i.a	Pó molhavel	Ditiocarbamato+inorgânico
Metiram + piraclostrobina	Cabrio Top	55 + 5 i.a	Granulado Dispersível	Ditiocarbamato + Estrubilurina
Piraclostrobina	Comet	25 i.a	Concentrado Emulsionável	Estrubilurina
Clorotalomil	Daconil BR	75 i.a	Pó molhavel	Isoftalonitrila
Clorotalomil + tiofanato m etílico	Cerconil WP	50 + 20 i.a	Pó molhavel	Isoftalonitrila + Benzimidazol
Carbendazim	Rodazim 500 SC	50 i.a	Suspensão Concentrada	Benzimidazol

Os isolados foram cultivados em meio de cultura aveia-ágar por 15 dias, a 25°C, em escuro, para favorecer a esporulação do fungo. Após o período de incubação, foi realizada a coleta de conídios, através da raspagem do crescimento fúngico desenvolvido na superfície do meio de cultura, de cada um dos isolados de *C. lindemuthianum* em água destilada e esterelizada. As suspensões obtidas foram filtradas em camada dupla de gaze esterelizada.

As concentrações de conídios foram padronizadas em hemacitômetro, a $5,0 \times 10^5$ conídios.mL⁻¹, como descrito por Maringoni e Barros (2002). Cem microlitros de cada suspensão foram distribuídas uniformemente na superfície de cada placa de Petri, com o auxílio de uma alça de Drigalski. Para todos os fungicidas foram avaliadas as mesmas concentrações do ensaio de crescimento micelial (item 4.2.1.). O tratamento testemunha foi representado pelo meio BDA sem fungicida. Posteriormente, as placas de Petri foram mantidas a 25°C, durante 24h.

Um conjunto de papel de filtro, lâmina e lamínulas de vidro foi preparado no interior de placas de Petri e autoclavado. Porções de meio de cultura contendo o fungo, de aproximadamente 1,5 cm de diâmetro, foram retiradas e transferidas para a lâmina de vidro (2 discos/lâmina). Gotas de lactofenol azul de algodão foram depositadas sobre o disco de meio de cultura, visando paralisar o crescimento fúngico, e colocada uma lamínula sobre o disco.

Para cada isolado fúngico e para cada concentração de fungicida foi avaliada a germinação de 100 conídios por disco. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada parcela representada por um disco de meio de cultura. Com os resultados obtidos foram feitos os cálculos da porcentagem de inibição média da germinação e determinada a faixa de inibição de 50% da germinação dos conídios (ED₅₀) para cada um dos isolados fúngicos.

4.3. Avaliação da sensibilidade de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas *in vivo*

Para o ensaio *in vivo*, foram avaliados os mesmos isolados de *C. lindemuthianum* utilizados para o teste de germinação de conídios (item 4.2.2.). As folhas primárias utilizadas no ensaio foram destacadas de plantas de feijão-vagem (cultivar Itatiba

II) no estádio V2, cujas plantas se desenvolveram em vasos, sob condições de casa de vegetação.

Após a coleta, as folhas foram levadas ao laboratório e submersas em uma solução do espalhante adesivo Tween 80 (solução a 10%), por 10 segundos, com o objetivo de facilitar a adesão da calda fungicida, e também da suspensão de esporos do fungo conforme descrito por Gulart (2009). Imediatamente as folhas foram imersas nas soluções dos fungicidas oxicloreto de cobre + mancozeb (2g/L), chlorotalonil (2g/L), chlorotalonil + tiofanato metílico (3,5g/L), tiofanato metílico (2g/L), mancozeb (4g/L), metiram + piraclostrobina (3g/L), piraclostrobina (0,6ml/L), óxido cuproso (2g/L) e carbendazim (2ml/L) por aproximadamente cinco segundos e colocadas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, contendo papel de filtro umedecido em água destilada.

As suspensões de conídios foram pulverizadas 24 horas após a aplicação dos fungicidas. Suspensões de conídios de cada isolado foram preparadas a partir de placas com abundante esporulação do patógeno e previamente cultivadas em meio aveia-ágar por 15 dias, a 25°C. Foi utilizada uma concentração padrão de esporos de 10^6 conídios.mL⁻¹ em todas as inoculações.

Após a inoculação, as folhas foram mantidas no escuro por 24 horas e posteriormente incubadas em B.O.D por sete dias, a 20°C, com fotoperíodo de 12 horas. O tratamento testemunha foi constituído por folhas somente imersas em água e inoculadas com as suspensões de conídios dos isolados. Também foram feitas 3 placas contendo folhas que foram imersas em água, sem posterior inoculação (testemunha absoluta). Foi avaliada a severidade da doença (porcentagem da área foliar doente) após sete dias da inoculação com a utilização da escala diagramática descrita por Dalla Pria (1997).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições, para cada isolado e produto. Os dados foram transformados em $\arcsen\sqrt{x}/100$ e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5%.

4.4. Determinação de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem

Para determinar as raças fisiológicas dos 12 isolados de *C. lindemuthianum* obtidos de feijão-vagem (Tabela 1), foram semeadas as cultivares

diferenciais de feijões, em bandejas de vermiculita esterelizada, Michelite, Michigan Dark Red Kidney, Perry Marrow, Cornell 49-242, Widusa, Kaboon, México 222, Pi 207262, TO, TU, AB 136 e G 2333. Foram utilizadas cinco plantas por genótipo para cada isolado, de acordo com a metodologia empregada por Pastor-Corrales (1991) e Carbonell et al. (1999). Suspensões de conídios de 10^6 conídios.mL⁻¹ foram pulverizadas sobre as plântulas de feijão de cada um dos genótipos. Uma planta do cultivar Pérola suscetível a todas as raças de *C. lindemuthianum* foi utilizada para cada série diferenciadora como testemunha. As plântulas foram mantidas em uma sala climatizada à temperatura ao redor de 23°C, umidade de 90% e luminosidade controlada com fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação da severidade da doença nas plântulas, quanto à resposta à infecção, foi feita de 7 a 10 dias após a inoculação através da utilização de uma escala de notas de 1 a 9, na qual índices de 1 a 3 representam genótipos resistentes e índices acima de 3 denotam genótipos suscetíveis. Por meio de um sistema binário de avaliação, foi possível chegar à detecção em nível de raça, conforme valores numéricos atribuídos, segundo Pastor-Corrales (1991).

5. Resultados e Discussão

a) Avaliação da sensibilidade *in vitro* do crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem a fungicidas

Os resultados referentes às avaliações da porcentagem média de inibição do crescimento micelial dos 12 isolados de *C.lindemuthianum* de feijão-vagem às diferentes concentrações dos fungicidas encontram-se nas Tabelas 3 a 11.

Observa-se baixa sensibilidade dos isolados, quanto à inibição do crescimento micelial aos fungicidas óxido cuproso (Tabela 3), mancozeb (Tabela 4), tiofanto metílico (Tabela 5), carbendazim (Tabela 6) e oxiclreto de cobre + mancozeb (Tabela 8), pois predominantemente a faixa de ED₅₀ foi superior a 1000 µg.mL⁻¹ desses fungicidas, com exceção de alguns isolados com faixa de ED₅₀ entre 100-1000 µg.mL⁻¹ para mancozeb, isolados Feij 3153 e Feij 3155; carbendazim, isolado Feij 3156. A Figura 1 ilustra a baixa sensibilidade do isolado Feij 3149 ao tiofanato metílico

Para o chlorothalonil, houve diferença na sensibilidade dos isolados, pois a faixa da ED₅₀ foi de 10-100 µg.mL⁻¹ para cinco isolados (Feij 3150, Feij 3153, Feij 3154, Feij 3155 e Feij 3156) e faixa de ED₅₀ entre 100-1000 µg.mL⁻¹, para os outros seis isolados e apenas o isolado Feij 3148 apresentou a faixa de ED₅₀ superior a 1000 µg.mL⁻¹ (Tabela 7).

Os isolados apresentaram alta sensibilidade a piraclostrobina (Tabela 9), pois apresentaram a faixa de ED₅₀ entre 1-10 µg.mL⁻¹. A figura 2 ilustra a sensibilidade do isolado Feij 3148 a esse fungicida.

Tabela 3. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial *in vitro* de 12 isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem a óxido cuproso.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
	1	10	100	1000	
Feij 3147	0,00*	0,00	2,15	10,29	>1000
Feij 3148	0,00	0,00	0,62	8,58	>1000
Feij 3149	0,00	0,00	0,00	7,45	>1000
Feij 3150	0,00	0,00	0,26	23,04	>1000
Feij 3151	0,00	0,00	3,15	24,90	>1000
Feij 3152	0,00	0,00	0,04	20,73	>1000
Feij 3153	0,20	1,76	6,29	25,89	>1000
Feij 3154	3,15	3,33	8,88	9,75	>1000
Feij 3155	0,00	0,00	4,97	8,63	>1000
Feij 3156	0,70	9,01	12,57	28,87	>1000
Feij 3157	0,00	0,00	6,63	17,87	>1000
Feij 3158	0,00	0,16	5,48	14,62	>1000

*Medida em quatro repetições

Tabela 4. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial *in vitro* de 12 isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-yagem a mancozeb.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
	1	10	100	1000	
Feij 3147	0,00*	0,00	9,99	40,79	>1000
Feij 3148	0,00	0,00	14,93	43,49	>1000
Feij 3149	0,00	0,00	5,35	35,70	>1000
Feij 3150	0,00	4,18	7,28	42,15	>1000
Feij 3151	2,40	8,04	9,82	43,82	>1000
Feij 3152	0,00	0,00	12,51	48,33	>1000
Feij 3153	6,29	9,75	22,43	55,31	100-1000
Feij 3154	0,00	0,00	10,05	43,34	>1000
Feij 3155	0,00	0,00	12,28	52,12	100-1000
Feij 3156	0,00	0,00	8,42	46,06	>1000
Feij 3157	0,00	1,87	0,00	30,84	>1000
Feij 3158	0,00	0,16	7,48	46,60	>1000

*Média em quatro repetições

Tabela 5. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial *in vitro* de 12 isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem a tiofanato metílico.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	1	10	100	1000	10000	>10000
Feij 3147	9,69*	5,50	11,18	10,59		>1000
Feij 3148	3,63	9,28	8,98	16,72		>1000
Feij 3149	4,15	6,25	8,65	17,97		>1000
Feij 3150	10,64	16,06	15,03	20,71		>1000
Feij 3151	3,02	8,93	11,30	21,05		>1000
Feij 3152	3,70	11,63	14,27	28,07		>1000
Feij 3153	11,19	14,07	15,22	21,28		>1000
Feij 3154	13,84	11,21	14,72	19,10		>1000
Feij 3155	22,15	26,17	29,46	37,87		>1000
Feij 3156	13,16	17,01	26,79	38,65		>1000
Feij 3157	6,34	10,66	14,99	24,21		>1000
Feij 3158	11,76	13,19	14,33	20,33		>1000

*Média em quatro repetições

Tabela 6. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial *in vitro* de 12 isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem a carbendazim.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	1	10	100	1000		
Feij 3147	2,33*	4,31	9,99	16,87		>1000
Feij 3148	3,93	8,39	9,58	20,88		>1000
Feij 3149	1,98	0,00	3,25	12,26		>1000
Feij 3150	1,52	2,69	20,97	22,52		>1000
Feij 3151	7,45	7,45	9,82	16,62		>1000
Feij 3152	6,93	8,98	15,44	19,85		>1000
Feij 3153	5,13	2,54	8,30	18,40		>1000
Feij 3154	3,74	4,03	9,17	19,39		>1000
Feij 3155	6,07	13,01	23,98	34,58		>1000
Feij 3156	3,68	6,94	17,31	51,99		100-1000
Feij 3157	6,34	7,49	6,92	29,11		>1000
Feij 3158	9,19	8,62	11,48	21,47		>1000

*Média em quatro repetições

Tabela 7. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial *in vitro* de 12 isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem a chlorothalonil.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	1	10	100	1000		
Feij 3147	6,10*	16,57	47,67	67,11	100-1000	
Feij 3148	3,63	20,88	34,46	48,09	>1000	
Feij 3149	3,55	7,15	45,01	72,06	100-1000	
Feij 3150	9,35	24,59	54,55	67,72	10-100	
Feij 3151	5,09	16,62	48,55	73,09	100-100	
Feij 3152	12,21	18,97	48,91	73,87	100-100	
Feij 3153	26,09	41,94	57,36	69,53	10-100	
Feij 3154	4,79	11,21	50,18	72,55	10-100	
Feij 3155	19,59	30,92	53,22	70,26	10-100	
Feij 3156	16,12	47,24	62,36	75,70	10-100	
Feij 3157	7,78	24,78	49,28	69,45	100-1000	
Feij 3158	8,34	29,18	46,03	74,30	100-1000	

*Média em quatro repetições

Tabela 8. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial *in vitro* de 12 isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem a oxicloreto de cobre + mancozeb.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
	1	10	100	1000		
Feij 3147	5,80*	6,10	7,00	25,54	>1000	>1000
Feij 3148	6,01	8,69	7,50	26,83	>1000	>1000
Feij 3149	3,19	6,55	14,06	43,21	>1000	>1000
Feij 3150	0,00	6,25	12,71	20,71	>1000	>1000
Feij 3151	4,63	7,45	6,86	24,90	>1000	>1000
Feij 3152	7,81	9,28	9,86	18,97	>1000	>1000
Feij 3153	1,76	5,71	10,03	28,78	>1000	>1000
Feij 3154	0,35	1,52	7,13	30,78	>1000	>1000
Feij 3155	0,00	0,00	7,89	31,65	>1000	>1000
Feij 3156	2,98	3,38	14,64	44,58	>1000	>1000
Feij 3157	6,34	6,63	9,51	16,43	>1000	>1000
Feij 3158	6,05	3,20	12,34	13,48	>1000	>1000

*:Media em quatro repetições

Tabela 9. Porcentagem de inibição do crescimento micelial *in vitro* de 12 isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem a piraclostrobina.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	I	10	100	1000		
Feij 3147	11,48*	73,09	77,57	100,00		1-10
Feij 3148	19,39	70,55	100,00	100,00		1-10
Feij 3149	8,05	69,95	78,97	100,00		1-10
Feij 3150	22,00	76,76	100,00	100,00		1-10
Feij 3151	11,89	71,61	76,64	100,00		1-10
Feij 3152	10,75	71,23	78,27	100,00		1-10
Feij 3153	14,65	68,28	77,80	100,00		1-10
Feij 3154	15,30	72,25	76,34	100,00		1-10
Feij 3155	11,18	60,89	73,68	100,00		1-10
Feij 3156	14,34	71,55	78,36	100,00		1-10
Feij 3157	10,37	69,45	76,08	100,00		1-10
Feij 3158	20,62	71,16	79,15	100,00		1-10

*Média em quatro repetições

Tabela 10. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial *in vitro* de 12 isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem a metiram + piraclostrobina.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
	1	10	100	
Feij 3147	7,00*	15,07	64,11	79,67
Feij 3148	10,77	18,20	43,78	79,77
Feij 3149	5,59	14,96	45,91	100,00
Feij 3150	3,98	13,87	51,45	100,00
Feij 3151	5,51	9,23	43,82	78,12
Feij 3152	9,57	10,75	45,68	81,21
Feij 3153	4,56	10,90	46,94	100,00
Feij 3154	3,74	10,92	43,34	81,31
Feij 3155	1,39	13,74	40,06	76,97
Feij 3156	4,86	17,61	53,47	100,00
Feij 3157	2,38	10,66	49,86	100,00
Feij 3158	5,77	8,62	46,32	100,00

*Média em quatro repetições

Tabela 11. Porcentagem média de inibição do crescimento micelial *in vitro* de 12 isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem a tiofanato metílico + cholorothalonil.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
	1	10	100	1000	
Feij 3147	8,49*	23,15	36,60	50,23	100-1000
Feij 3148	6,01	28,32	31,70	43,35	>1000
Feij 3149	4,00	9,25	38,70	57,64	100-1000
Feij 3150	17,10	34,92	45,25	57,74	100-1000
Feij 3151	7,16	28,15	49,44	58,97	100-1000
Feij 3152	6,64	23,66	36,00	58,90	100-1000
Feij 3153	8,20	10,61	59,34	67,99	10-100
Feij 3154	8,88	25,53	37,79	69,63	100-1000
Feij 3155	7,05	20,56	45,18	61,26	100-1000
Feij 3156	8,40	27,39	44,06	65,62	100-1000
Feij 3157	6,43	19,31	30,84	45,82	>1000
Feij 3158	3,48	28,61	48,03	70,02	100-1000

*Média em quatro repetições

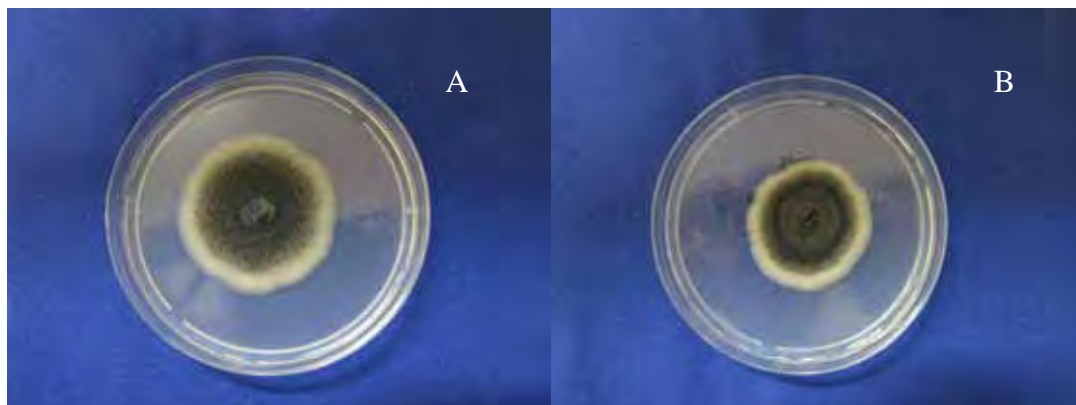


Figura 1. (A) Crescimento micelial do isolado Feij 3149 de *Colletotrichum lindemuthianum* na ausência de fungicidas e (B) crescimento micelial na presença de $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de tiofanato metílico.

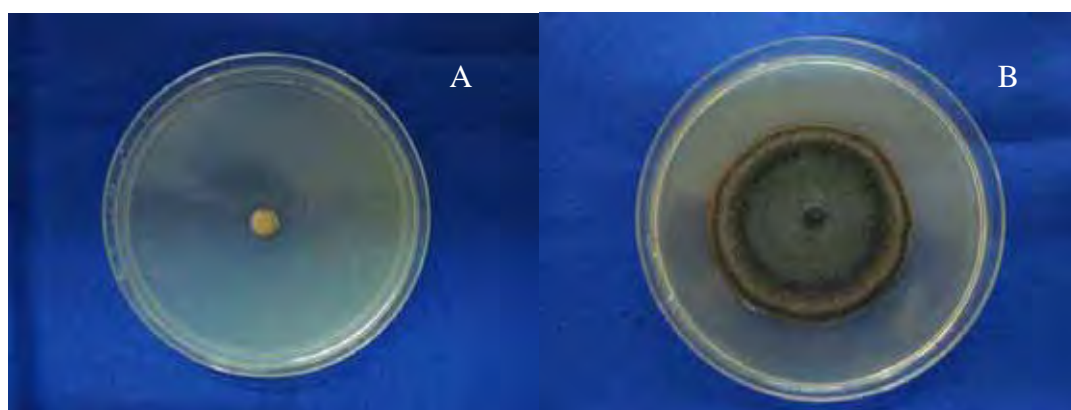


Figura 2. (A) Crescimento micelial do isolado Feij 3148 de *Colletotrichum lindemuthianum* na presença de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de piraclostrobina e na ausência de fungicida (B).

Para as misturas metiram + piraclostrobina a faixa de ED₅₀ entre os isolados foi variável, pois três deles (Feij 3147, Feij 3150 e Feij 3156) a faixa de ED₅₀ foi de 10 - 100 µg.mL⁻¹ e para os demais isolados, foi de 100-1000 µg.mL⁻¹ (Tabela 10). Para a mistura de tiofanato metílico + chlorothalonil o isolado Feij 3153 apresentou faixa de ED₅₀ de 10-100 µg.mL⁻¹, nove isolados a faixa de 100-1000 µg.mL⁻¹ e dois isolados (Feij 3148 e Feij 3157) faixa superior a 1000 µg.mL⁻¹ (Tabela 11).

Nas Tabelas 12 a 20 estão relacionadas à porcentagem de inibição da germinação de conídios dos isolados Feij 3147, Feij 3150, Feij 3155 e Feij 3158, frente às diferentes concentrações dos diversos fungicidas, bem como a faixa de ED₅₀. Foi observada baixa sensibilidade dos isolados quanto à germinação dos conídios aos fungicidas óxido cuproso (Tabela 12), tiofanato metílico (Tabela 14) e carbendazim (Tabela 17), pois apresentaram faixa de ED₅₀ a esses produtos superior a 1000 µg.mL⁻¹. Para mancozeb (Tabela 13), oxiclreto de cobre + mancozeb (Tabela 18) e tiofanato metílico + chlorothalonil (Tabela 19), a faixa de ED₅₀ dos isolados ficou entre 10-100 µg.mL⁻¹. E para piraclostrobina (Tabela 16) e metiram + piraclostrobina (Tabela 20), a faixa de ED₅₀ foi entre 1-10 µg.mL⁻¹. E por fim, para o chlorothalonil (Tabela 15), a faixa de ED₅₀ foi inferior a 1 µg.mL⁻¹.

Tabela 12. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a óxido cuproso.

Isolado	Concentração (µg.mL ⁻¹)				Faixa de ED ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
	1	10	100	1000	
Feij - 3147	2,86	22,08	26,75	43,12	>1000
Feij - 3150	1,79	22,82	26,41	43,85	>1000
Feij - 3155	0,00	18,45	20,59	38,77	>1000
Feij - 3158	5,37	23,02	21,99	43,48	>1000

Tabela 13. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a mancozeb.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				Faixa de ED_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
	1	10	100	1000	
Feij - 3147	9,35	42,08	92,73	100	10-100
Feij - 3150	11,54	43,08	86,92	100	10-100
Feij - 3155	8,82	42,78	93,05	100	10-100
Feij - 3158	13,30	47,83	84,14	100	10-100

Tabela 14 Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a tiofanato metílico.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				Faixa de ED_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
	1	10	100	1000	
Feij - 3147	1,04	9,87	20,78	31,04	>1000
Feij - 3150	4,36	9,23	19,74	34,36	>1000
Feij - 3155	0,00	4,55	17,11	36,05	>1000
Feij - 3158	3,84	10,49	23,02	38,97	>1000

Tabela 15. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a chlorothalonil.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				Faixa de ED_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
	1	10	100	1000	
Feij - 3147	67,09	100	100	100	<1
Feij - 3150	68,71	100	100	100	<1
Feij - 3155	74,33	100	100	100	<1
Feij - 3158	69,30	100	100	100	<1

Tabela 16. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a piraclostrobina.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
	1	10	100	1000	
Feij - 3147	23,12	84,16	100,00	100,00	1-10
Feij - 3150	19,23	83,85	100,00	100,00	1-10
Feij - 3155	21,12	83,96	100,00	100,00	1-10
Feij - 3158	23,79	83,12	100,00	100,00	1-10

Tabela 17. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a carbendazim.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
	1	10	100	1000	
Feij - 3147	2,86	12,73	21,04	23,12	>1000
Feij - 3150	6,92	11,28	20,77	33,33	>1000
Feij - 3155	6,42	7,22	18,45	28,61	>1000
Feij - 3158	4,09	14,07	15,60	35,81	>1000

Tabela 18. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a oxicloreto de cobre + mancozeb.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
	1	10	100	1000	
Feij - 3147	7,73	22,93	64,18	100	10-100
Feij - 3150	9,50	16,88	71,77	100	10-100
Feij - 3155	4,14	11,14	65,29	100	10-100
Feij - 3158	11,74	21,67	78,60	100	10-100

Tabela 19. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a tiofanato metílico + chlorothalonil.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
	1	10	100	1000	
Feij - 3147	4,38	12,89	65,21	100,00	10-100
Feij - 3150	0,26	11,08	62,80	100,00	10-100
Feij - 3155	3,63	14,25	65,03	100,00	10-100
Feij - 3158	3,66	13,32	64,75	100,00	10-100

Tabela 20. Porcentagem média de inibição da germinação de conídios de quatro isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a metiram + piraclostrobina.

Isolado	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)				Faixa de ED ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
	1	10	100	1000	
Feij - 3147	20,62	62,63	100,00	100,00	1-10
Feij - 3150	21,64	59,89	100,00	100,00	1-10
Feij - 3155	23,32	63,73	100,00	100,00	1-10
Feij - 3158	19,84	68,67	100,00	100,00	1-10

A variação na sensibilidade do crescimento micelial de *C. lindemuthiaunum* a fungicidas do grupo dos benzimidazóis (benomyl, carbendazim e tiofanato metílico) pode ser encontrada na literatura, principalmente em isolados obtidos de feijão-seco, destinados a grãos (BALARDIN; RODRIGUES, 1995; RAVA et al. 1998; MARINGONI; BARROS, 2002; SARTORATO, 2006; SARTORI; MARINGONI, 2007; RAJESHA et al. 2010). Para isolados que apresentaram sensibilidade a esse grupo de fungicidas, verifica-se drástica redução no crescimento micelial em concentrações iguais e/ou inferiores a $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (BALARDIN; RODRIGUES, 1995; RAVA et al. 1998; MARINGONI; BARROS, 2002; SARTORATO, 2006; SARTORI; MARINGONI, 2007) e em contrapartida, isolados com baixa sensibilidade, apresentam crescimento miceliano em

concentrações superiores a $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (MARINGONI; BARROS, 2002) ou $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (SARTORATO, 2006; SARTORI; MARINGONI, 2007), desses fungicidas. Os resultados aqui observados para os 12 isolados de *C. lindemuthianum* oriundos de isolamento de feijão-vagem apresentaram baixa sensibilidade a carbendazim e tiofanato metílico (Tabelas 5 e 6), com faixa de ED_{50} predominantemente superiores a $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, resultados esses concordantes com os observados por Maringoni e Barros (2002); Sartorato (2006); Sartori e Maringoni (2007), podendo assim serem considerados resistentes a esses fungicidas semelhantes aos isolados de feijão comum.

Tanto o tiofanato metílico (Tabela 14) quanto o carbendazim (Tabela 17) apresentaram baixa eficiência na inibição da germinação dos conídios dos quatro isolados de *C. lindemuthianum*, pois a faixa de ED_{50} foi superior a $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Entretanto, há relato em literatura de que isolado de *C. lindemuthianum* sensível a benomyl apresentou 52,2% de inibição na germinação de conídios na presença da concentração de $0,8 \mu\text{g.mL}^{-1}$ desse produto (RAVA et al. 1998). Já Maringoni e Barros (2002) não constataram a inibição da germinação de cinco isolados de *C. lindemuthianum* com resistência cruzada a benomyl, carbendazim e tiofanato metílico, na presença de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ desses fungicidas.

No Brasil há relatos de alguns fungos causadores de doenças em plantas que são resistentes aos fungicidas do grupo dos benzimidazóis, como por exemplo *Botrytis cinerea* (GHINI; KIMATI, 2000), *Guignardia citricarpa* (MARTINS et al., 1998) e *Didymella bryoniae* (SANTOS et al., 2006) entre outros

A resistência de fungos aos fungicidas benzimidazóis é devida à mutação do gene β -tubulina principalmente nos códons 198 ou 200 (MCKAY et al., 1997; MCKAY et al., 1998).

Para chlorothalonil, cinco isolados apresentaram alta sensibilidade do crescimento micelial ao fungicida (Tabela 7), com faixa de ED_{50} $10\text{-}100 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Esses resultados foram semelhantes aos de Baumgart e Porto (1978) que, ao avaliarem o crescimento micelial de um isolado de *C. lindemuthianum*, concluíram que a concentração de $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$, mesmo não inibindo 100% o crescimento do fungo, foi eficiente, pois inibiu 50% do crescimento do mesmo. Para outros seis isolados, a faixa de ED_{50} encontrou-se entre $100\text{-}1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, coincidindo com os resultados de Maringoni e Barros (2002), que obtiveram resultado semelhante ao avaliarem os isolados Feij 2761 e Feij 2768 de *C. lindemuthianum* na presença de chlorothalonil. Rava et al. (1998) também

obtiveram resultados semelhantes, tendo encontrado inibição em 50% do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, na faixa de concentração entre 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de chlorothalonil.

Apenas o isolado Feij 3148 apresentou baixa sensibilidade a chlorothalonil, sendo inibido apenas em concentrações maiores que 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tabela 7). Rajesha et al. (2010) também não obtiveram inibição do crescimento micelial de um isolado de *C. lindemuthianum*, na concentração de 800 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Sartori e Maringoni (2007) relataram que os isolados I-11, I-12, I-13 e I-15 de *C. lindemuthianum* apresentaram baixa sensibilidade a chlorothalonil, mesmo quando expostos a 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Quanto à germinação de conídios, todos os isolados foram sensíveis a chlorothalonil tendo sua germinação inibida na concentração de 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tabela 15). Rava et al. (1998) relataram que a germinação de conídios de *C. lindemuthianum* foi inibida completamente com concentrações inferiores a 0,032 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de chlorothalonil; Maringoni e Barros (2002) constataram que isolados de *C. lindemuthianum* foram sensíveis a chlorothalonil, com inibição da germinação dos conídios em concentrações inferiores a 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, assim como este estudo.

Existem na literatura alguns relatos da variação de sensibilidade a chlorothalonil em outros patógenos. Cheah et al. (1981), ao trabalharem com *Pyrenopeziza brassicae in vitro*, encontraram que a inibição do crescimento micelial se situava na faixa de ED de 1-10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, no mesmo estudo, os autores relatam que concentrações inferiores a 0,1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ já seriam suficientes para inibir completamente a germinação de conídios. Jayasinghe e Wysundera (1995) obtiveram 100% de inibição de germinação de *Cylindrocladium quiqueseptatum* na concentração de 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de chlorothalonil e Mesta et al. (2009), ao trabalharem com *Alternaria helianthi* em girassol, relataram inibição de crescimento miceliano e germinação na faixa de concentração de 0,2-0,3 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ daquele fungicida.

Para a mistura de tiofanato metílico + chlorothalonil os isolados de *C. lindemuthianum* se comportaram de forma variável quanto à sensibilidade (Tabela 11). O isolado Feij 3153 foi o mais sensível à mistura, encontrando-se na faixa de ED₅₀ de 10-100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, esse resultado pode ter ocorrido em função da sensibilidade do isolado a chlorothalonil, visto que o isolado apresentou-se sensível a esse princípio ativo de forma isolada, não apresentando sensibilidade a tiofanato metílico. O resultado obtido em relação ao isolado Feij 3153 foi semelhante ao obtido por Balardin e Rodrigues (1995), que

relataram inibição do crescimento micelial em 50% de oito isolados de *C. lindemuthianum*, em concentrações inferiores a $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ da mistura de tiofanato metílico + chlorothalonil e a Sartori e Maringoni (2007), que relataram que os isolados I-14 e I-19 de *C. lindemuthianum* foram inibidos na faixa de ED_{50} de 10-100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Já os isolados Feij 3148 e Feij 3157 foram pouco sensíveis a mistura, pois concentrações superiores a $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ não foram suficientes para inibir em 50% o crescimento micelial desses isolados; Sartori e Maringoni (2007) encontraram o mesmo padrão de sensibilidade para os isolados I-12, I-13 e I-14 de *C. lindemuthianum*.

Os demais isolados apresentaram sensibilidade na faixa de ED_{50} de 100-1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de tiofanato + chlorothalonil (Tabela 11) semelhante aos resultados descritos por Sartori e Maringoni (2007) que obtiveram esse valor de ED_{50} para os isolados I-4 e I-7 de *C. lindemuthiaunum*.

Os resultados quanto à inibição da germinação de conídios para tiofanato metílico + chlorothalonil encontram-se na Tabela 19. Os quatro isolados ficaram na faixa de ED_{50} de 10-100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ da mistura, que confirma a ação de chlorothalonil na inibição de germinação dos conídios. Não há relatos em literatura quanto à ação dessa mistura de fungicidas na germinação de conídios de *C. lindemuthiaunum*, no entanto alguns autores citam o efeito de tiofanato metílico + chlorothalonil na germinação de outros fungos fitopatogênicos, como por exemplo, Silva et al. (2006) relatam que a concentração $0,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ do fungicida foi o suficiente para inibir a germinação de dois isolados de *Myrothecium roridum* oriundos de algodão.

Em relação ao mancozeb, houve pequena variação da sensibilidade dos isolados de *C. lindemuthiaunum*, apenas os isolados Feij 3153 e Feij 3155 apresentaram inibição do crescimento micelial na faixa de ED_{50} de 100-100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os demais isolados apresentaram baixa sensibilidade ao fungicida, pois apresentaram faixa de ED_{50} superior a $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tabela 4). Rajesha et al. (2010), ao avaliarem a sensibilidade de *C. lindemuthianum* a mancozeb, encontraram resultados semelhantes ao relatarem a inibição do crescimento micelial na faixa de ED_{50} 20-100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, entretanto Rava et al.(1998) encontraram isolados do mesmo fungo sensíveis a mancozeb, pois tiveram o crescimento micelial inibido na faixa de ED_{50} 20-100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de concentração do fungicida.

Para a germinação de conídios, todos os quatro isolados testados apresentaram sensibilidade nas faixas de ED_{50} 10-100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o mancozeb (Tabela

13). Rava et al. (1998) encontraram inibição da germinação de conídios na faixa ED₅₀ 0,032 – 0,16 µg.mL⁻¹ de concentração.

Na literatura, alguns autores relatam a sensibilidade de diversos fungos fitopatogênicos a mancozeb. Cheah et al. (1981) verificaram que a faixa de concentração de 1-10 µg.mL⁻¹ inibiu em 50% o crescimento micelial e germinação de conídios de *Pyrenopeziza brassicae*, agente causal da mancha luminosa do alface; Alam et al. (2004) ao avaliarem a sensibilidade de *Fusarium oxysporum*, causador da podridão radicular em pimenta, encontraram inibição total da germinação de conídios para aquele fungo em concentrações inferiores a 500 µg.mL⁻¹ de mancozeb; Tsai et al. (2006) relataram que a faixa de ED₅₀ 10-100 µg.mL⁻¹ de mancozeb inibiu em 50% o crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum gloesporioides* de manga e de *Colletotrichum musae* de banana e de faixas inferiores a 10 µg.mL⁻¹ para inibir *Colletotrichum gloesporioides* de pomelo. No mesmo estudo, os autores relatam que concentrações inferiores a 10 µg.mL⁻¹ inibiram em 50% a germinação de conídios para todos os patógenos avaliados.

O fungicida mancozeb é classificado por Kuck e Gisi (2007), como possuidor de baixo risco de desenvolvimento de resistência em fungos, isso se deve ao modo de ação classificado como multissítio, de acordo com o mesmo comitê. Devido à diversificada atuação enzimática, é possível que ocorra variação quanto à sensibilidade de isolados fúngicos em relação ao fungicida.

A sensibilidade de *C. lindemuthianum* quanto a piraclostrobina mostrou-se uniforme, pois todos os isolados tiveram crescimento micelial e germinação de conídios inibidos em 50% quando expostos a faixa de ED₅₀ 1-10 µg.mL⁻¹ desse fungicida (Tabela 9 e 16).

Sartorato (2006) relatou que oito isolados de *C. lindemuthianum* apresentaram alta sensibilidade a piraclostrobina, pois todos eles foram completamente inibidos em concentrações inferiores a 187,5 µg.mL⁻¹. Sartori e Maringoni (2007) ao avaliarem a sensibilidade de 20 isolados de *C. lindemuthianum* a trifloxystrobin, fungicida pertencente ao grupo das estrobilurinas assim como piraclostrobina, encontraram 16 isolados sensíveis ao fungicida, sendo estes inibidos em 50% do crescimento micelial com concentrações inferiores a 1 µg.mL⁻¹. No entanto, no mesmo estudo os autores relatam que os isolados I-12 e I-13 foram inibidos apenas em concentrações que variaram entre 100 µg.mL⁻¹ e 1000 µg.mL⁻¹.

Outros autores também relatam a alta sensibilidade de alguns fitopatógenos quando expostos a piraclostrobina. Ferreira et al. (2006) ao avaliarem a sensibilidade de *Cylindrocladium candelabrum* em eucalipto, relataram que as concentrações de 0,21 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 0,34 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de piraclostrobina foram efetivas para inibir em 50% a germinação de conídios e o crescimento micelial respectivamente; Zang et al. (2012) relataram que a concentração de 0,0243 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de piraclostrobina inibiu em 50% a germinação de conídios de *Cercospora sojina* em soja; Bezerra (2007) obteve 98% de inibição da germinação de *Amphobotrys ricini* com a concentração de 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de azoxistrobina. Em contrapartida, Kimura et al. (2001) relatam que apenas concentrações maiores que 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de azoxistrobina, fungicida do grupo da estrobilurinas, seriam capazes de inibir em 50% o crescimento micelial de *Botrytis cinerea in vitro*, demonstrando a baixa sensibilidade deste patógeno ao fungicida.

Para a mistura de metiram + piraclostrobina os isolados Feij 3147, Feij 3150 e Feij 3156 apresentaram faixa de ED_{50} 10 – 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, os demais isolados ficaram na faixa de ED_{50} 100 - 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o crescimento miceliano (Tabela 10). Quanto a inibição da germinação de conídios, os quatros isolados avaliados foram sensíveis a mistura na faixa de concentração de 1 - 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tabela 20).

Alguns autores relatam a ocorrência de maior sensibilidade de outros fungos à mistura de metiram + piraclostrobina. Silva et al. (2006) ao avaliarem a sensibilidade de *Myrothecium roridum*, agente causal da mancha-de-mirotécio em algodoeiro, relataram que os isolados CNPA 0012 e CNPA 0014, tiveram 50% do crescimento micelial inibido nas concentrações de 0,79 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 3,36 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ respectivamente, para a germinação de conídios os autores citam que a concentração de 0,99 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ da mistura do fungicida inibiu a germinação do isolado CNPA 0012, já o isolado CNPA 0014 teve a germinação de conídios inibida na concentração de 0,07 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ da mistura.

Tsai et al. (2006), ao avaliarem a sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* a metiram, relataram que os isolados 2209 e 2428 provenientes de manga e pomelo, foram inibidos em 50% do crescimento micelial com concentrações que variaram entre 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ do fungicida. No mesmo estudo, os autores observaram que um isolado de *Colletotrichum musae* apresentou a mesma faixa de sensibilidade de 10 - 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para inibição em 50% do crescimento micelial e os demais isolados tiveram a inibição da germinação em concentrações inferiores a 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

A diferença de inibição entre crescimento micelial e germinação de conídios, observada nos fungicidas inibidores do processo respiratório deve-se, provavelmente, ao mecanismo de ação. As estrobirulinas, oxazolidinedionas e imidazolinonas atuam por meio da inibição da respiração mitocondrial, bloqueando a transferência de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c1 (Complexo III) impedindo a formação de ATP e conseqüentemente a produção de energia. Os conídios para germinarem demandam alta energia que é obtida pelas vias respiratórias convencionais inibidas por estes fungicidas. O micélio, por sua vez, além das vias respiratórias convencionais pode gerar energia por vias alternativas e por glicolise. A energia gerada pelas vias alternativas é limitada, no entanto pode ser suficiente para que o micélio cresça por algum espaço de tempo, mesmo após o contato com o fungicida (LEROUX, 1996; YPEMA; GOLD, 1999, citados por TOFOLI et al., 2003).

Para os fungicidas cúpricos, óxido cuproso e a mistura oxiclreto de cobre + mancozeb, os isolados apresentaram baixa sensibilidade mesmo a $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tabela 3 e 8). Quanto à germinação de conídios, os quatros isolados avaliados apresentaram baixa sensibilidade a óxido cuproso, pois não houve inibição em 50% da germinação de conídios nem a na maior concentração testada que foi de $1000 \mu\text{g.ml}^{-1}$ (Tabela 12). Para a mistura oxiclreto de cobre + mancozeb, todos os isolados se encontraram na faixa de ED_{50} de $10\text{-}100 \mu\text{g.ml}^{-1}$ (Tabela 18).

Não foi localizada na literatura a sensibilidade de isolados de *C. lindemuthianum* a fungicidas cúpricos, no entanto, alguns autores citam a ação desses fungicidas em outros fungos. Cheah et al. (1981) relatam que concentrações superiores a $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de hidróxido de cobre inibiram em 50% o crescimento micelial e a germinação de conídios de *Pyrenopeziza brassicae*, agente causador da mancha luminosa em alface; Alam et al. (2004) relatam que concentrações inferiores a $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de oxiclreto de cobre inibiram em 50% a germinação de conídios de *Fusarium oxisporum*; Tsai et al. (2006) citam que a faixa de ED_{50} de $10\text{-}100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de sulfato de cobre inibiu em 50% o crescimento micelial e a germinação de esporos para isolados de *C. gloesporioides* e *C. musae*; Montag et al. (2006) relatam que a concentração 1 mmol/L de óxido cuproso inibiu completamente a germinação de *Venturia inaequalis*, agente causal da sarna da macieira, e Mesta et al. (2009) ao avaliarem o crescimento micelial de *Alternaria helianthi*, agente causal da mancha de *Alternaria* em girassol, relataram que a apenas concentrações superiores a $0,3 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de oxiclreto de cobre inibiram em 50% o

crescimento micelial, no mesmo estudo os autores relatam que a germinação de conídios foi inibida com concentrações inferiores a $0,3 \mu\text{g.mL}^{-1}$ do fungicida.

b) Avaliação da sensibilidade de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas *in vivo*

Os resultados, apresentados na Tabela 21 foram semelhantes aos ocorridos *in vitro*, o tratamento com o fungicida piraclostrobina, apresentou total ausência de sintomas da doença para os quatro isolados testados após sete dias de incubação (Figura 3). A mistura metiram + piraclostrobina também foi eficiente não sendo observados sintomas da antracnose nas folhas tratadas com esse fungicida.

Os fungicidas mancozeb, chlorothalonil e as mistura tiofanato metílico + chlorothalonil e oxiclureto de cobre + mancozeb apresentaram bons resultados, pois apresentaram baixos índices de severidade média da doença para todos os quatro isolados (Tabela 21). Em contrapartida, os fungicidas benzimidazóis (tiofanato metílico e carbendazim) não controlaram a doença, visto que, todos os isolados apresentaram baixa sensibilidade aos fungicidas, assim como ocorreu com os testes *in vitro*. Os isolados também apresentaram baixa sensibilidade a óxido cuproso, pois as folhas tratadas com esse fungicida apresentaram altos valores de severidade da doença.

Os menores valores médios de severidade obtidos pela mistura de fungicidas tiofanato metílico + chlorothalonil, quando comparados aos obtidos por tiofanato metílico de forma isolada provavelmente caracteriza a sensibilidade dos isolados a chlorothalonil devido à baixa sensibilidade apresentada pelos isolados de *C. lindemuthianum* quanto aos fungicidas benzimidazóis.

Alguns estudos de campo relatam a ação de vários fungicidas sobre a antracnose do feijoeiro comum. Os resultados foram semelhantes em relação a alguns fungicidas, mas diferiram em relação a outros, como por exemplo Bashir et al. (1985) que relataram a aplicação dos fungicidas benomyl e chlorothalonil resultou nos menores valores de severidade da antracnose em folhas e vagens de feijão.

Tabela 21. Severidade de antracnose em folhas primárias destacadas de feijão-vagem cultivar Itatiba II tratadas com diferentes fungicidas e inoculadas com quatro isolados de *Colletotrichum lindemuthianum*.

Tratamento	Isolado			
	Feij - 3147	Feij - 3150	Feij - 3155	Feij - 3158
Testemunha sem fungicida	71,67 a*	100,00 a	100,00 a	100,00 a
Óxido Cuproso	31,67 b**	40,00 b	35,00 c	40,00 c
Mancozeb	1,67 c	2,67 c	1,67 e	3,00 e
Tiofanato Metílico	41,67 b	43,33 b	43,33 b	55,00 b
Carbendazim	66,67 a	41,67 b	51,67 b	46,67 c
Chlorothalonil	4,00 c	1,67 c	1,67 e	1,67 e
Piraclostrobina	0,00 d	0,00 d	0,00 f	0,00 f
Mancozeb + Oxicloreto de Cobre	4,00 c	2,67 c	2,00 e	5,00 d
Tiofanato metílico + chlorothalonil	8,67 c	6,00 c	9,33 d	8,00 d
Metiram + piraclostrobina	0,00 d	0,00 d	0,00 f	0,00 f
C.V.%	17,65	16,98	10,70	9,61

* Dados transformados em $\arcsen\sqrt{x}/100$.

** Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente entre si no teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

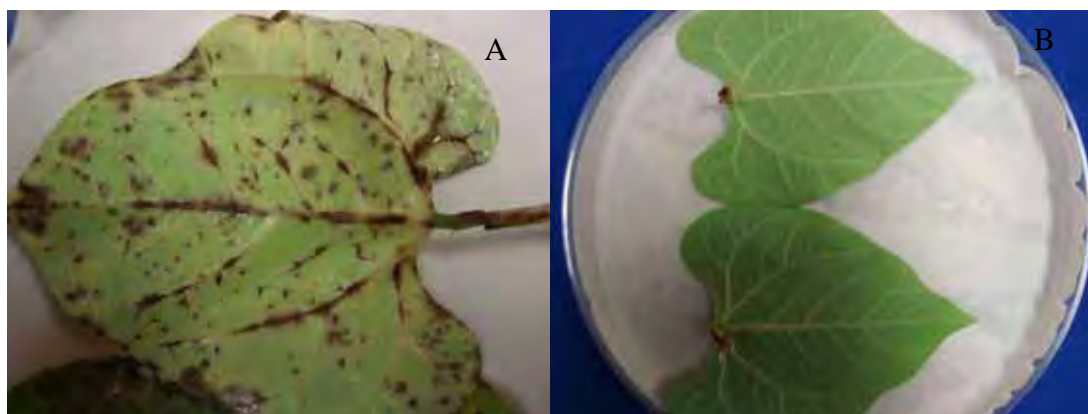


Figura 3. (A) Isolado Feij 3150 na ausência de fungicida, (B) com piraclostrobina.

No estudo, esses autores avaliaram duas variedades de feijão comum, 6601 e M-19-19, e encontraram os valores de 2,13 e 2,06 de severidade da antracnose nas folhas quando tratadas com benomyl e chlorothalonil respectivamente para a variedade 6601 e a testemunha não tratada com fungicida, apresentou 3,27 de severidade da doença nas folhas;

Para a variedade M-19-19 a severidade de antracnose nas folhas de feijão foi de 1,80 para benomyl e 1,87 para chlorothalonil, enquanto que a testemunha não tratada apresentou 3,33 de severidade. Os autores ainda informaram que a produtividade de grãos alcançada com a utilização desses fungicidas foi bem superior à obtida no tratamento testemunha, com incrementos de produção de até 79,07% quando tratados com benomyl.

Os resultados obtidos por Bashir et al. (1985) foram semelhantes quanto a chlorothalonil, no entanto, diferiram quanto aos valores de severidade obtidos para tiofanato metílico, fungicida esse com modo de ação semelhante ao benomyl, conforme os dados de severidade obtidos no presente estudo.

Em relação ao chlorothalonil, Castro et al. (1991) relatam que plantas de feijão comum do cultivar Carioca apresentaram 0,88 de severidade da antracnose na safra das seca de 1985, quando tratadas com chlorothalonil, número significativamente menor do que a testemunha não tratada com fungicidas que apresentou nota 4 de severidade. Esses autores comentam que a doença não manifestou sintomas nas folhas e nas vagens na safra das águas de 1986, quando as plantas foram pulverizadas com chlorothalonil. Jasper (2010) também relata o menor índice de severidade obtido no período de março a junho de 2008, quando plantas de feijoeiro, da cultivar IPR88 –

Uirapuru, foram pulverizadas com chlorothalonil em comparação com outros sete tratamentos (testemunha não pulverizada, piraclostrobina, azoxystrobina, hidróxido de fentina, tebuconazol, difenoconazol e metconazol); Bulisani et al. (1987) encontraram uma produtividade média de 2630 kg/ha em oito variedades de feijão comum (Carioca 80, Aroana 80, Aysó, Moruna 80, Carioca, Rio Negro, Carioca Pitoco e Rosinha IAC) quando estas foram submetidas ao tratamento com chlorothalonil, em função da baixa incidência da antracnose, diferenciando do tratamento testemunha (sem fungicida) que apresentou produtividade de 2278 kg/ha, os autores relatam ainda que as variedades pulverizadas com mancozeb, apresentaram a produtividade média de 2635 kg/ha, também devido ao controle da antracnose.

Para a mistura de tiofanato metílico + chlorothalonil, Garcia et al. (2007) relatam resultados semelhantes ao avaliarem a pulverização do fungicida em cinco épocas distintas (15; 29; 43; 57 e 71 dias após a emergência), em um plantio de feijoeiro comum cultivar Carioca, no período de 1996/1997. No estudo, os valores de severidade da antracnose são inferiores a 10% de ocorrência de lesões nas folhas quando tratadas com essa mistura de fungicidas.

Os resultados obtidos para mancozeb e oxicleto de cobre + mancozeb foram semelhantes aos obtidos por Castro et al. (1991), que relataram a severidade da antracnose em plantas de feijoeiro comum foi inferior a 10% da área foliar quando as plantas foram pulverizadas com mancozeb, a mesma severidade foi encontrada para o tratamento das plantas com oxicleto de cobre. No entanto, a severidade encontrada para carbendazim foi diferente, pois os autores citam que valores foram inferiores a 10 % da área foliar doente. Isso mostra que naquela época o fungicida carbendazim ainda era eficiente no controle da antracnose do feijoeiro.

Já para a piraclostrobina, há alguns relatos na literatura que coincidem como os resultados encontrados. Conner et al. (2004) ao avaliarem a eficiência do fungicida piraclostrobina quando aplicado em diversos estágios fenológicos da cultura do feijão branco para o controle da antracnose, obtiveram ausência de sintomas da doença quando a aplicação do fungicida foi feita no início e no final do florescimento. No mesmo estudo, os autores citam que o menor número de infecção da antracnose nas vagens foi obtido no mesmo período de pulverização do fungicida; Gillard et al. (2010) ao realizarem trabalho semelhante, com feijão seco, relataram que a pulverização de piraclostrobina reduziu a severidade da antracnose a 2% de lesões nas folhas, quando o fungicida foi

aplicado no início e no final do florescimento, diferindo assim da testemunha que apresentou 86% da área foliar com antracnose.

Todavia os resultados obtidos diferem do encontrado por Jasper (2010) que obteve até 24,7% de severidade da antracnose após duas aplicações de piraclostrobina em cultivares de feijão da variedade IPR88 - Uirapuru.

Com relação aos resultados obtidos para a mistura de piraclostrobina com metiram, a alta sensibilidade apresentada pelos isolados quando tratados com a mistura desses princípios ativos pode ter ocorrido em função da sensibilidade apresentada pelos mesmos à piraclostrobina de modo isolado, já que não se tem conhecimento de relatos em literatura que descrevam a sensibilidade de *C. lindemuthianum* a metiram. O mesmo ocorre com o fungicida óxido cuproso, onde não há relatos sobre a avaliação da sensibilidade de *C. lindemuthianum* e esse fungicida.

c) Determinação de raças dos isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem

Após a avaliação das plantas inoculadas, constatou-se que os isolados de *C. lindemuthianum* Feij 3147, Feij 3148, Feij 3149, Feij 3150, Feij 3151, Feij 3152, Feij 3157 e Feij 3158 pertencem à da raça 65, e os isolados Feij 3153, Feij 3154, Feij 3155 e Feij 3156 pertencem à da raça 81 (Tabela 22). A Figura 4 mostra a reação de suscetibilidade e de resistência de alguns genótipos de feijoeiro ao isolado Feij 3155.



Figura 4. (A) Suscetibilidade da variedade México 222 ao isolado Feij 3155 de *Colletotrichum lindemuthianum* e (B) resistência das variedades Cornell 49-242 (4), Widusa (5) e Kaboon (6) ao mesmo isolado, obtido de feijão-vagem.

Para feijão comum, Balardin et al. (1990) encontraram a presença destas raças no Estado de Santa Catarina; Somavilla e Prestes (1999) também registraram a ocorrência dessas raças no Estado do Rio Grande do Sul; Carbonell et al. (1999) relataram a ocorrência das mesmas no Estado de São Paulo, bem como Thomazella et al. (2002) que relataram as raças no Paraná.

Por fim, Abud et al. (2011) também chegaram a esse resultado e relataram que as raças 65 e 81 são as mais frequentes encontradas em Estados brasileiros, ao avaliarem 1189 isolados de *C. lindemuthianum* provenientes de várias localidades produtoras de feijão comum do país.

Conforme os resultados aqui observados, os genótipos de feijão com resistência as raças 65 e 81 deverão ser utilizados no melhoramento genético do feijão-vagem, visando à incorporação de resistência à antracnose em cultivares suscetíveis.

6. Conclusões

Isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* de feijão-vagem apresentam baixa sensibilidade no crescimento micelial aos fungicidas óxido cuproso, mancozeb, tiofanato metílico, carbendazim e oxiclureto de cobre + mancozeb e sensibilidade a chlorothalonil e piraclostrobina;

Isolados de *C. lindemuthianum* de feijão-vagem apresentam baixa sensibilidade na germinação de conídios aos fungicidas óxido cuproso, carbendazim e tiofanato metílico e sensibilidade a mancozeb, chlorothalonil, piraclostrobina, oxiclureto de cobre + mancozeb e metiram + piraclostrobina;

A aplicação preventiva de mancozeb, chlorothalonil, piraclostrobina, mancozeb + oxiclureto de cobre e metiram + piraclostrobina apresentam eficácia no controle da antracnose em folhas primárias destacadas de feijão-vagem cultivar Itatiba II;

Os isolados de *Colletotrichum lindemuthianum*, provenientes de feijão-vagem oriundos de várias localidades do Estado de São Paulo, pertencem às raças 65 e 81.

7. Referências Bibliográficas

ABUD, R. D. O. G; WENDLAND, A.; PEREIRA, R. J., MELO, L. C.; PEREIRA, H. S.; & DA COSTA; J. G. C. Frequência de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* nos estados brasileiros produtores de feijoeiro comum. In: Congresso brasileiro de Melhoramento de Plantas, 6., 2011, Búzios. **Panorama atual e perspectivas do melhoramento de plantas no Brasil**. Búzios: SBMP, 2011. p. 1 - 4.

AGROFIT, Agrofit: Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso 18 de agosto de 2011.

ALAM, S.; ISLAM, M. R.; SARKAR, M. A.; CHOWDHURY, A. N.; ALAM, M. S. & LEE, M. W. In Vitro Effect of Fungicides, Plant Extracts and Smoke on Conidial Germination of *Fusarium oxysporum* Root Rot Pathogen of Piper betle. **Mycobiology**, v. 32, n. 1, p. 42-46, 2004.

ANDRADE, M.J.B. Clima e solo. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: Aspectos gerais e cultura no estado de Minas**. Viçosa: UFV, 1998. p. 83-97.

ANDRUS, C.F.; WADE, B. L. **The factorial interpretation of anthracnose resistance in beans**. US Dept. of Agriculture, 1942.

ARAÚJO, I.D. Identificação da raça alfa do *Colletotrichum lindemuthianum* e a reação de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 8, p. 159-162, 1973.

ARAUJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J.O. (cord). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafós, 786p. 1996.

AVILA-ADAME, C.; OLAYA, G.; KÖLLER, W. Characterization of *Colletotrichum graminicola* isolates resistant to strobilurin-related QoI fungicides. **Plant Disease**, v. 87, n. 12, p. 1426-1432, 2003.

- BACON, J.R.; CLAYTON, P.B. Protection for seeds: a new filmcoating technique. **Span**, v.29, p.54-56, 1986.
- BALARDIN, R. S.; PASTOR-CORRALES, M. A.; OTOYA, M. M. Variabilidade patogênica de *Colletotrichum lindemuthianum* no Estado de Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, n. 243-245, 1990.
- BALARDIN, R.S.; RODRIGUES, J.C.V. Sensibilidade 'in vitro' de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas sistêmicos e protetores. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, n.3, p. 494-497, 1995.
- BARAK, E.; EDGINGTON, L. V. Cross-resistance of *Botrytis cinerea* to captan, thiram, chlorothalonil, and related fungicides. **Canadian journal of plant pathology**, v. 6, n. 4, p. 318-320, 1984.
- BARROS, R.G.; YOKOYAMA, M.; COSTA, J.L.S. Compatibilidade do inseticida thiamethoxam com fungicidas utilizados no tratamento de sementes de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.21, n.2, p.153-157, 2001.
- BARRUS, M. F. Variation of varieties of beans in their susceptibility to anthracnose. **Phytopathology**, v. 1, n. 6, p. 190-195, 1911.
- BARRUS, M.F. Varietal susceptibility of beans to strains of *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. e Magn.) Brit. et Cav. **Phytopathology**, v.8, p.589-614, 1918.
- BASHIR, M.; ALAM, S.S.; QURESHI, S.H.; MALIK, B.A.; Control of mungbean anthracnose by foliar fungicides. **Pakistan Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 3, p. 173-175, 1985
- BAUMGART, R. W.; PORTO, M. D. M. Avaliação em ensaio de laboratório, da fungitoxicidade de seis produtos químicos usados para o controle de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. e Magn.) Scribner em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)[Antracnose]. **Agronomia Sulriograndense**, v. 14, 1978.
- BEZERRA, C. S. **Estrutura genética e sensibilidade a fungicidas de *Amphobotrys ricini*, agente causal do mofo cinzento da mamoneira**. 2007. 47 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.
- BIDDLE, A. J.; CATTLIN, N. D. Anthracnose. In: BIDDLE, A. J.; D.CATTLIN, N. **Pests, diseases and disorders of peas and Beans**. San Diego: Academic Press, 2007. p. 46-47.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.;CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: Kimati, H., et al. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3° ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, p. 376-399, 1997.
- BLONDET, A. **Étude des races physiologiques francaises du *Colletotrichum lindemuthianum***. 1963. 160 f. Ph.D thesis. Faculté de Sciences, Paris. 1963.
- BONETT, L. P ; SCHEWE, I ; SILVA, L. I. Variabilidade de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijoeiro comum no oeste do estado do paraná. **Scientia agraria**, v. 9, n. 2, p. 207-210, 2008

BRENT, K. J.; HOLLomon, D. W. **Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed?**. Brussels: GIFAP, 1995.

BULISANI, E. A.; CASTRO, L.J.; ALMEIDA, L.; ITO, M.F.; DUDIENAS, C. Efeito de aplicação de chlorotalonil e mancozeb em oito cultivares de feijão em capão bonito, SP. In: II REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2., 1987, Goiânia. **Resumos Renafe**. Brasília: Embrapa, 1987. p. 73 - 73.

BURKHOLDER, W.H. The production of an anthracnose-resistant white marrow bean. **Phytopathology**, v. 8, p. 353-359, 1918.

CARBONELL S. A. M. ; ITO M. F. ; POMPEU A. S. ; FRANCISCO F. G. ; RAVAGNANI S. ; ALMEIDA A. L. L. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* e reação de cultivares e linhagens de feijoeiro no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 60-65, 1999.

CASTRO, J. D., ITO, M., DUDIENAS, C., BULISANI, E., & ALMEIDA, L. Ação de Fungicidas Sobre Dois Cultivares de Feijoeiro em Capão Bonito, SP. **Bragantia**, v. 50, p. 309-321, 1991.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 42, p. 225-226, 1939.

CHAVES, G. La antracnosis. In: SCHWARTZ, H.F; GALVEZ, G.E. (ed). **Problemas de producción del frijol: enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de Phaseolus vulgaris**. Cali, CIAT, p. 37-53, 1980.

CHEAH, L. H.; CORBIN, J. B.; HARTILL, W. F. T. Control of light leaf spot of brassicas (*Pyrenopeziza brassicae* Sutton & Rawlinson) with fungicides. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 24, n. 3-4, p. 391-395, 1981.

CONNER, R. L.; MCANDREW, D. W.; KIEHN, F. A.; CHAPMAN, S. R.; FROESE, N. T. Effect of foliar fungicide application timing on the control of bean anthracnose in the navy bean 'Navigator'. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 26, n. 3, p. 299-303, 2004.

CRISPÍN, M.A.; SIFUENTES, J.A. & AVILA, J.C. **Enfermedades y plagas del frijol en México**. México: INIA, 1976, 42 p. (INIA Folheto de Divulgación, 39).

DALLA PRIA, M. **Quantificação de parâmetros monocíclicos da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) e da mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) do feijoeiro**. 1997. 82p. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1997.

DALLA PRIA, M.; SILVA, O.C. Antracnose. In: DALLA PRIA, M. ; SILVA, O. C. **Cultura do feijão: doenças e controle**. Ponta Grossa: Uepg, 2010. p. 49-56.

DARIO, G. J. A.; DARIO, P. W.; VINCENZO, M. C. V. Avaliação do fungicida (hexconazole + chlorotalonil) no controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*)

ocorrente na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Summa Phytopatologica**, Jaguariúna, v. 21, p. 54-54, 1995. Suplemento. Resumo

DOMINGUES, R. J.; TÖFOLI, J. G.; OLIVEIRA, S. H. F.; JÚNIOR, O. G. Controle químico da flor preta (*Colletotrichum acutatum* simmonds) do morangueiro em condições de campo. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v. 68, n. 2, p. 37-42, 2001.

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A. L. Produção de feijão. Guaíba: **Agropecuária**, 2000.

FARIA, L.C.; PELOSO, M. J. D.; MELO L.C.; COSTA, J. G. C.; RAVA, C. A.; DÍAZ, J. L. C.; FARIA, J.C.; SILVA, H.T.; SARTORATO, A.; BASSINELLO, P.Z.; TROVO, J.B.F. BRS Cometa: a carioca common bean cultivar with erect growth habit. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.8, p.167-169, 2008.

FERNANDES, M.C.A.; SANTOS, A.S.; RIBEIRO, R.L.D. Sensibilidade ao fungicida benomil in vitro de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de frutos de pimentão, jiló e berinjela. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v.68, n.2, p.89-95, 2001.

FERREIRA, E. M., ALFENAS, A. C., MAFFIA, L. A., & MAFIA, R. G. Efficiency of systemic fungicides for control of *Cylindrocladium candelabrum* in eucalypt. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 468-475, 2006.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2008, 418p.

FOUILLOUX, G. L'anthracnose du haricot: etude des relations entre les pathotypes anciens et noucase. Etude de nourellis sources de resistance totale. p.81-92. In: **Reunion Eucarpia Haricot**, Versailles. Centre National de Recherches Agronomiques, Versailles. 1975.

GARCIA, A.; SOUZA, P. E. D.; POZZA, E. A.; SANTOS, F. D. S. Influência das variáveis ambientais no progresso da antracnose do feijoeiro e eficiência de tiofanato metílico + clorotalonil no controle da doença. **Ciênc. Agrotec**, Lavras, v. 31, n. 6, p.1709-1715, 26 abr. 2007.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 1ª edição. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

GIANASI, L. Patossistema feijoeiro-antracnose: efeito do trifenil acetato de estanho no crescimento do hospedeiro e no progresso da doença. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.6, n.2, p. 309-317, 2002.

GILLARD, C. L.; RANATUNGA, N. K.; CONNER, R. L. The effect of foliar fungicide application timing on the control of dry bean anthracnose. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 92, n. 1, p. 109-118, 2011.

GOTO, M.; HIKOTA, T.; NAKAJIMA, M.; TAKIKAWA, Y.; TSUYUMI, S. Occurrence and properties of copper-resistance in plant pathogenic bacteria. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, v. 60, p.147-153, 1994.

- GULART, C. A. **Sensibilidade *in vitro* e *in vivo* de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magn.) briosi & cav., a fungicidas sistêmicos.** 2009. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria/RS, Santa Maria, 2009.
- HADDAD, F.; MAFFIA, L.A.; MIZUBUTI, E.S.G. Avaliação de fungicidas para controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em cebola. **Fitopatologia brasileira** 28:435-437. 2003.
- HALL, R (ed). **Compendium of bean disease**, APS Press, 1994, 73 p.
- HAMADA, N. A.; KATSURAYAMA, Y.; DANTAS, A.C.M. Sensibilidade *in vitro* ao benomyl por isolados de *Colletotrichum* spp. associados à mancha da gala em macieira. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 5, p. 347-351, 2009.
- IEA. **Estatísticas de Produção da Agropecuária Paulista.** Disponível em: <http://ciagri.iea.sp.gov.br/nia1/subjetiva.aspx?cod_sis=1&idioma=1>. Acesso em: 13 set. 2013.
- ISHII, H. Fungicide research in Japan—an overview. In: **Modern fungicides and antifungal compounds.** DPG Selbstverlag, Braunschweig, Germany, p. 11-17, 2008.
- JASPER, M. **Comparativo de diferentes grupos de fungicidas no controle de doenças do feijoeiro.**2010. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Uepg, Ponta Grossa, 2010.
- KELLY, J. D.; AFANADOR, L; CAMERON, L. S. New races of *Colletotrichum lindemuthianum* in Michigan and implications in dry bean resistance breeding. **Plant disease**, v. 78, n. 9, p. 892-894, 1994.
- KIMATI, H. Algumas raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. que ocorrem no Estado de São Paulo. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 23, p. 247-264, 1966.
- KIMURA, M.K.; SOUZA, P.E. & CASTRO, H.A. Sensibilidade *in vitro* de *Botrytis cinerea* a fungicidas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n.5, p. 1150-1160, 2001.
- KOSOSKI, R.M.; FURLANETTO, C.; TOMITA, C.K.; CAFÉ-FILHO, A.C. Efeito de fungicidas em *Colletotrichum acutatum* e controle da antracnose do morangueiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, n.3, p. 662-666, 2001.
- KRÜGER, J.; HOFFMANN, G. M.; HUBBELING, N. The kappa race of *Colletotrichum lindemuthianum* and sources of resistance to anthracnose in *Phaseolus* beans. **Euphytica**, v. 26, n. 1, p. 23-25, 1977.
- KUCK, K.H.; GISI, U. FRAC mode of action classification and resistance risk of fungicides. **Modern crop protection compounds**, p. 415-432, 2007.
- LAMONDIA, J. A.; DOUGLAS, S. M. Sensitivity of *Botrytis cinerea* from Connecticut greenhouses to benzimidazole and dicarboximide fungicides. **Plant Disease**, v. 81, n. 7, p. 729-732, 1997.
- LEROUX, P. Recent developments in the mode of action of fungicides. **Pesticide Science**, v. 47, n. 2, p. 191-197, 1996.

- MAHUKU, G. S.; RIASCOS, J. J. Virulence and molecular diversity within *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Andean and Mesoamerican bean varieties and regions. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, n. 3, p. 253-263, 2004.
- MARINGONI, A.C.; BARROS, E.M. Ocorrência de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* resistentes a fungicidas benzimidazóis. **Summa Phytopathologica**, v. 28, n.2, p. 197-200, 2002
- MARIOT, E.J. Aptidões climáticas, ideótipos e épocas de cultivo do feijoeiro no Paraná. In: IAPAR. **Feijão: Tecnologia e Produção**. Londrina: IAPAR, 2000. (Informe de pesquisa, 135) p. 5-13.
- MARTINS, F.T.; OLIVEIRA, A.M.R.; DUARTE, V. Resistência de *Guignardia citricarpa* ao fungicida benomyl. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, Supl. 1, p. 256, 1998.
- McKAY, G.J.; COOK, L.R. A PCR – based method to characterize and identify benzimidazole resistance in *Helminthosporium solani*. **FEMS Microbiology Letters**, 152, p. 371-378, 1997.
- McKAY, G.J.; EGAN, D.; MORRIS, E. & BROWN, A.E. Identification of benzimidazole resistance in *Cladobotrium dendroides* using PCR based method. **Mycological Research**, v.102, n.6, p. 671-676, 1998.
- MESQUITA, A. G. G.; PAULA, T. J.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Identification of races of *Colletotrichum lindemuthianum* with the aid of PCR-based molecular markers. **Plant disease**, v. 82, n. 10, p. 1084-1087, 1998.
- MESTA, R. K.; BENAGI, V. I.; KULKARNI, S.; SHANKERGOUD, I. In vitro evaluation of fungicides and plant extracts against *Alternaria helianthi* causing blight of sunflower. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 22, n. 1, 2009.
- MEYER E. Resistance development against systemic fungicides benzimidazole derivatives in *Colletotrichum lindemuthianum*. **Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft**, v.166, n.7, p.135, (1976).
- MONTAG, J.; SCHREIBER, L.; SCHÖNHERR, J. An *in vitro* study of the nature of protective activities of copper sulphate, copper hydroxide and copper oxide against conidia of *Venturia inaequalis*. **Journal of Phytopathology**, v. 154, n. 7-8, p. 474-481, 2006.
- NETO, D.D.; FANCELLI, A.L. Principais doenças fúngicas da parte aérea. In: NETO, D. D.; FANCELLI, A. L.. **Produção de feijão**. Livraria e Editora Agropecuária, p. 269-275, 2000.
- OLIVEIRA, S.H.F. Novos fungicidas e programas de pulverização para o controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 29, n.1, p.45-48, 2003.
- PARADELA FILHO, O.; ITO, M. F.; POMPEU, A. S. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v. 17, n. 3/4, 1991.

PASTOR-CORRALES, M. A. Estandarización de variedades diferenciales y de designación de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Phytopathology**, v. 81, p. 694, 1991.

PEIXOTO, N.; THUNG, M.D.T.; SILVA, L.O.; FARIAS, J.G.; OLIVEIRA, E.B.; BARBEDO, A.S.C.; SANTOS, G. Avaliação de cultivares arbustivas de feijão-vagem, em diferentes ambientes do Estado de Goiás. Goiânia: EMATER-GO, 1997. (Boletim de Pesquisa 01), 42 p.

PEREIRA, A. V. S. **Sensibilidade a fungicidas e adaptabilidade de *Lasiodiplodia theobromae* patogênico ao mamão**. 2009. 58 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

PICININI, E.C.; FERNANDEZ, J.M. Controle químico da mancha angular e da antracnose do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, n.1, p. 92-94, 2000.

PIRES, L.L.; BRAGANTINI, C.; COSTA, J.L.S. Armazenamento de sementes de feijão revestidas com polímeros e tratadas com fungicidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.7, p.709-715, 2004.

RAJESHA, G.; MANTUR, S. G.; RAVISHANKAR, M.; SHADAKSHARI, T. V.; BORANAYAKA, M. B. Screening of dolichos bean (*Dolichos lablab* L.) genotypes for resistance to anthracnose disease caused by *Colletotrichum lindemuthianum*. **International Journal of Plant Protection**, v.3, n.1, p. 135-136, 2010.

RAMALHO, C.I. **Efeito da urina de vaca e adubação mineral sobre o rendimento e a salinidade do feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Areia: UFPB-CCA, 50 f. Dissertação (mestrado em Agronomia). 2003

RAVA, C. A.; PURCHIO, A. F.; SARTORATO, A. Caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, n. 2, p.167-173, 1994.

RAVA, C.A. & SARTORATO, A. Antracnose. In: Sartorato, A. & Rava, C.A. (Eds.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: EMBRAPA,SPI, 1994. pp.17-39.

RAVA, C.A; SARTORATO, A.; BOTELHO, S.A. Eficiência *in vitro* e *in vivo* de fungicidas no controle de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathologica**, v. 24, p. 45-48, 1998.

RAVA, C.A. Eficiência de fungicidas no controle da antracnose da mancha angular do feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, v.28, n.1, p. 65-69, 2002.

REY, M. S.; LIMA, N. B.; SANTOS, J.; PIEROBOM, C. R. Transmissão semente-plântula de *Colletotrichum lindemuthinum* em feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Arquivos do Instituto Biológico**, Pelotas, v. 76, n. 3, p.465-470, 2009.

RODRIGUES, M. B. C.; ANDREOTE, F. D.; SPÓSITO, M. B.; AGUILLAR-VILDOSO, C. I.; ARAÚJO, W. L.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 3, p. 323-327, 2007.

- RODRÍGUEZ-GUERRA, R.; RAMÍREZ-RUEDA, M. T.; LA VEGA, D.; MARTÍNEZ, O.; SIMPSON, J. Variation in genotype, pathotype and anastomosis groups of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Mexico. **Plant Pathology**, v. 52, n. 2, p. 228-235, 2003.
- SANTINI, A.; ITO, M. F.; DE CASTRO, J. L.; ITO, M. A.; GOTO, J. C. Ação fungicida do acaricida azocyclotin sobre a antracnose do feijoeiro comum. **Bragantia** v. 64, n. 2, p. 241-248, 2005.
- SANTOS, G. R.; CAFÉ-FILHO, A. C.; REIS, A. Resistência de *Didymella bryoniae* a fungicidas no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 476-482, 2006.
- SARTORATO, A. Sensibilidade 'in vitro' de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.36, n. 3, p. 211-213, 2007.
- SARTORI, J. E.; MARINGONI, A.C. Effect of Fungicides on Colony Growth of *Colletotrichum Lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. **Journal of Plant Protection Research**, v. 48, n. 2, p. 201-212, 2007.
- SILVA, K.J.D. **Distribuição e caracterização de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* no Brasil**. 2004. 88p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- SILVA, J. C.; MEYER, M. C.; COUTINHO, W. M.; SUASSUNA, N. D. Fungitoxicidade de grupos químicos sobre *Myrothecium roridum* in vitro e sobre a mancha-de-mirotécio em algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 5, p. 755-761, 2006.
- SILVA, J. C. M.; COELHO, L. Resistência a fungicidas de *Botrytis cinerea* Persoon ex Fries, fungo causador de tombamento em mudas de Eucalyptus sp. em viveiros florestais. **Ciência Florestal**, v. 13, n. 2, p. 27-36, 2003.
- SHABI, E., KATAN, T.; GERA, H.; ELISHAS, S. Taxonomic determination of pathogenic *Colletotrichum gloeosporioides* of almond, anemone and avocado according to fungicide sensitivity. **Phytoparasitica**, v.21,p.130-131, 1994.
- SHARMA, P.N.; SUGHA, S.K. Management of bean anthracnose through chemicals. **Indian Phytopathol.** v.48, n.3, p.304- 307, 1995
- SOMAVILLA, L. L.; PRESTES, A. M. Identificação de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* de algumas regiões do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p. 416-421, 1999.
- THOMAZELLA, C.; GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; VIDA, J. B.; FILHO, P. S. V.; RIMOLDI, F. Identification of *Colletotrichum lindemuthianum* races in *Phaseolus vulgaris* L. **Annual report-bean improvement cooperative**, v. 43, p. 82-83, 2000.
- TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J.; KUROZAWA, C. Ação in vitro de fungicidas no crescimento micelial e germinação de conídios de *Alternaria solani*, agente causal da pinta

preta do tomateiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 3, p. 337-345, 2003.

TSAI, J. N.; ANN, P. J.; HU, C. Y.; CHENG, S. F. Evaluation of fungicides for suppression of mycelial growth and conidial germination of *Colletotrichum* species isolated from mango, pomelo and banana fruit. **Plant Pathology Bulletin**, v. 15, n. 1, p. 39-54, 2006.

TU, J. C. Occurrence and characterization of the alpha-Brazil race of bean anthracnose [*Colletotrichum lindemuthianum*] in Ontario. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 129-131, 1994.

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

VIEIRA, F. J. P. **Resistência de *Venturia inaequalis* a estrobilurinas na Cova da Beira**. Castelo Branco : IPCB. ESA. 55 p. Dissertação de Mestrado. 2009.

YPEMA, H. L.; GOLD, R. E. Kresoxim-methyl: modification of a naturally occurring compound to produce a new fungicide. **Plant Disease**, v. 83, n. 1, p. 4-19, 1999.

ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G.M. Doenças do feijoeiro e seu controle. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.4, p. 50-63, 1978.

ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, W. S.; OLIVEIRA, S. H. F. **Manejo da resistência de fungos a fungicida**. Viçosa: UFV, 2007. 168p.

ZHANG, G. R.; NEWMAN, M. A.; BRADLEY, C. A. First report of the soybean frog eye leaf spot fungus (*Cercospora sojina*) resistant to quinone outside inhibitor fungicides in North America. **Plant Disease**, v. 96, n. 5, p. 767-767, 2012.

