

ANTRACNOSE DA TIMBAÚVA (*Enterolobium contortisiliquum* (VELL.)
MORONG): AGENTE CAUSAL, SINTOMATOLOGIA E TESTES DE INIBIÇÃO
"IN VITRO" DO PATÓGENO*

Anthracosis of Timbaúva Tree (*Enterolobium contortisiliquum*
(Vell.) Morong): Etiology, Sintomatology and Inhibition Tests
"In Vitro" of Pathogen

César Augusto Guimarães Finger** e Elocy Minussi***

RESUMO

Através da inoculação com um isolado de *Colletotrichum* causan-
do antracnose em timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.)
Morong) ficou comprovada sua patogenicidade. Este fungo determina
lesões alongadas, escuras e deprimidas nos caules, queda das folhas
e morte das plantas.

Baseado na morfologia dos conídios e nos critérios taxonômicos
correntes, sugere-se a denominação de *Colletotrichum dematium* (sen-
su ARX, 1957) f. sp. *enterolobii* n.c..

Avaliou-se, "in vitro", o crescimento micelial de *Colletotri-
chum* quando submetido as dosagens de 1 ppm, 10 ppm e 100 ppm de fun-
gicidas recomendados para o tratamento da parte aérea, como Ben-
omyl, Triadimefon, Mancozeb e Propineb, e fungicidas recomendados pa-
ra tratamento de sementes, como Captan, PCNB, Lesan, RH 2161 e WL
47675.

O Benomyl revelou-se o mais eficiente para o tratamento da parte
aérea e o PCNB para o tratamento de sementes.

SUMMARY

Inoculation carried out in a greenhouse with isolates of *Colle-
totrichum* causing anthracnosis on timbaúva tree (*Enterolobium con-
tortisiliquum* (Vell.) Morong) proved its pathogenicity. This fungus
causes long, dark and depressed lesions on the stems, leaf abscis-
sion and death of the plants.

Based on conidia morphology and current taxonomic criteria, we
suggest the denomination *Colletotrichum dematium* (sensu ARX, 1957)

-
- * Trabalho apresentado no XIII Congresso de Fitopatologia, de 06
a 11 de julho de 1980, Itaguaí, RJ, Brasil.
** Aluno do Curso de Engenharia Florestal e bolsista de Iniciação
à Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria,
RS, Brasil.
*** Professor Adjunto do Departamento de Defesa Fito-Sanitária da
Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

f. sp. *enterolobii* n.c..

The "in vitro" mycelial growth of the *Colletotrichum* was evaluated when submitted to 1 ppm, 10 ppm and 100 ppm of several fungicides such as Benomyl, Triadimefon, Mancozeb and Propineb as well as some fungicides used in seed treatments such as Captan, Lesan, RH 2161 and WL 47675.

The fungicide Benomyl showed the highest efficiency on the treatment of the aerial parts of the plants and PCNB on the treatment of the seeds.

INTRODUÇÃO

A antracnose da timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong) incitada por *Colletotrichum* sp. foi constatada pela primeira vez em 1978 por Elocy Minussi* (informação pessoal), causando sérios danos em viveiros do Departamento de Ciências Florestais do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria, RS.

Segundo GALVÃO (4), a timbaúva é uma espécie potencialmente indicada para o reflorestamento por se tratar de uma leguminosa, arborea, pioneira e heliófila. Além disso, apresenta alto valor ecológico devido à fixação de nitrogênio e a rápida decomposição de seus restos vegetais, podendo, por essa razão, ser utilizada para a recuperação de "habitats" degradados.

ARX (1) fez uma revisão taxonômica do gênero *Colletotrichum* e, baseando-se no trabalho de TIFFANI & GILMAN (10), agrupou as espécies com conídios fusiformes que atacam leguminosas, com largura média de 4 micrômetros, numa espécie única denominada *Colletotrichum dematium*. Dentro dessa espécie morfológica admitia especializações fisiológicas, porém não indicou *formae specialis*.

Trabalhos taxonômicos sobre formas especializadas de *Colletotrichum gloeosporioides* mostram uma tendência de se adotar o conceito amplo da espécie segundo ARX (1) e a nomenclatura de *formae specialis* (KIMATI, 8; MENTEN, 9).

Como se trata de uma doença nova e com grande potencial de danos para a timbaúva, carece de uma série de informações e, por essa razão, o presente trabalho tem por objetivos estudar as características do agente causal, a sintomatologia e o controle.

* Departamento de Defesa Fito-Sanitária da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O isolado de *Colletotrichum* sp. foi obtido de lesões dos caules de timbaúva e mantidos em tubos de ensaio com meio de BDA.

O inóculo foi desenvolvido em meio BDA (KELMAN, 7; TUIITE, 12) sob luz contínua de uma Biotronette Mark III Environmental Chamber, por 15 dias.

A inoculação foi feita por aspersão com um atomizador de Vil biss, utilizando-se uma suspensão de esporos de 3×10^6 esporos/ml.

Antes da semeadura as sementes de timbaúva sofreram uma incisão com lâminas segundo TOLEDO & MARCOS FILHO (11), a fim de acelerar e uniformizar a germinação. A inoculação foi feita 15 dias após a se meadura, utilizando-se três vasos com solo previamente esterilizado, contendo duas plantas cada um. Como testemunha foi utilizado um va so com duas plantas sem inoculação.

Os sintomas começaram a aparecer cinco dias após a inoculação e a avaliação dos resultados foi feita 10 dias após, determinando-se os sintomas da moléstia.

No estudo da morfologia dos conídios de *Colletotrichum* sp. em pregou-se um isolado desenvolvido em meio de BDA, mantido por 15 dias sob luz contínua. Após 15 dias foram efetuadas as determinações do tamanho e largura de 100 conídios tomados ao acaso, através de uma ocular micrométrica "OKNOR" Leitz, previamente calibrada para a objetiva de 40x. Calculou-se a média das leituras e as respectivas medidas de dispersão, ou seja, desvio padrão (s), erro da média S (\bar{m}) e o coeficiente de variação (C.V.%).

O ensaio de efeito fungitóxico, "in vitro", de alguns fungici das sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. foi efetuado em duas etapas. Na primeira foram utilizados quatro produtos reco mendados para o tratamento da parte aérea e na segunda cinco produ tos recomendados para tratamento de sementes.

O isolado foi repicado para o centro de placas de Petri conten do o meio de BDA e, após sete dias de incubação, a região da colô nia, em crescimento ativo, foi utilizada nos testes. A incubação foi feita sob luz contínua fornecida por duas lâmpadas fluorescen tes de 40 watts a 35 cm acima das placas e à temperatura de 28-30°C.

Para o preparo do meio de cultura com fungicida seguiu-se a téc nica descrita por EDGINGTON et alii (3) com a seguinte modificação: dissolveu-se os fungicidas em 5,0 ml de acetona, completando-se o volume para 100 ml com água destilada esterilizada. Desta suspensão obteve-se por diluição as concentrações de 100, 10 e 1 ppm de cada fungicida em BDA fundente (45-47°C).

Os fungicidas testados para o tratamento da parte aérea foram:

Benomyl a 50%, Triadimefon a 25%, Mancozeb a 80 p.a. mais Ion zinco a 2%, Propineb a 70% p.a..

Os produtos testados, para tratamento de sementes foram: Captan a 75%, PCNB a 75%, Lesan a 10% e também para os produtos experimentais WL 47675, fornecido pela firma Shell Química S.A., e RH 2161 (Sisthane), fornecido pela firma Rohm and Haas, Brasil S.A., contendo, respectivamente, 20% e 25% de ingredientes ativos ainda não liberados no mercado brasileiro.

Após a solidificação do meio, cada placa foi inoculada, centralmente, com um disco de micélio de *Colletotrichum* sp. obtido através de um vasador de rolha de 4 mm de diâmetro.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco repetições. Como testemunha utilizou-se placas contendo apenas BDA.

Para observação do efeito fungistático dos produtos no desenvolvimento micelial das culturas foram feitas leituras diárias, determinando-se o diâmetro das culturas, em mm, sendo essas encerradas sete dias após a inoculação, quando o crescimento do fungo atingiu os bordos das placas.

Para o cálculo da percentagem de inibição do crescimento (P.I.C.) utilizou-se a fórmula determinada por EDGINGTON et alii (3), onde:

$$P.I.C. = \frac{\text{crescimento testemunha} - \text{crescimento tratamento}}{\text{crescimento testemunha}} \times 100$$

Como os dados obtidos foram expressos em percentagem, para a análise da variância utilizou-se a transformação em $\text{arc sen } \sqrt{x}$, sendo empregado o teste Tukey para a comparação entre as médias.

RESULTADOS

Os resultados do teste de inoculação, realizado em casa de vegetação, provaram a patogenicidade do *Colletotrichum* sp. Os sintomas nos caules se manifestaram como lesões alongadas, deprimidas e escuras havendo, também a queda das folhas e morte das plantas (Figura 1). Sobre as lesões e, com o auxílio de lupa, pode-se observar numerosos acérvulos com setas.

Embora não tenham sido realizados testes de inoculação de sementes, foi observado que sementes aparentemente sadias podem dar origem a podridões no colo das plântulas e lesões escuras e deprimidas nos cotilédones.

O fungo se desenvolveu e esporulou abundantemente em meio BDA e apresentou acérvulos providos de setas e conídios falcados unice

lulares, hialinos e de aspecto granuloso. As dimensões médias (com primento e largura) dos conídios, com as respectivas medidas de dispersão (desvio padrão, erro da média e o coeficiente de variação), são apresentados na Tabela 1.



Figura 1. Timbaúva (*E. contortisiliquum* (Vell.) Morong) com sintomas causados por *Colletotrichum dematium* (sensu ARX, 1957) f. sp. *enterolobii* n.c.

Tabela 1. Dimensões médias dos conídios de *Colletotrichum* sp. cultivados em meio de BDA.

\bar{m}	COMPRIMENTO			\bar{m}	LARGURA		
	S	s(\bar{m})	C.V. (%)		S	s(\bar{m})	C.V. (%)
21,87	3,28	0,32	15,0	3,09	1,13	0,11	36,5

\bar{m} = média de 100 medições (em μm).

S = desvio padrão.

s(\bar{m}) = erro da média.

C.V. (%) = coeficiente de variação

Os resultados do efeito dos fungicidas recomendados para o tratamento da parte aérea e dosagens no crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Médias da percentagem de inibição do crescimento micelial "in vitro" de *Colletotrichum* sp., observadas em quatro fungicidas recomendados para o tratamento da parte aérea e em três dosagens.

DOSAGEM DO i.a. (ppm)	FUNGICIDAS			
	Benomyl	Mancozeb	Propineb	Triadimefon
1	83,75 ab**	10,00 b	1,00 c	4,76 b
10	86,50 a	7,50 b	14,75 b	10,16 b
100	76,25 b	56,50 a	60,75 a	22,18 a
Média	65,68 A*	27,53 B	26,91 B	12,37 D

* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

** Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na vertical, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%. C.V. (%) = 13,74.

A análise de variância mostrou efeito significativo, ao nível de 5%, entre fungicidas, dosagens e interação fungicidas x dosagem. O desdobramento dos graus de liberdade da interação indicou que o efeito das dosagens não é o mesmo para todos os fungicidas utilizados (Tabela 2). Dos fungicidas recomendados para a parte aérea o Benomyl foi o mais eficiente nas dosagens de 1 e 10 ppm.

Os resultados do efeito dos fungicidas recomendados para tratamento de sementes mostraram efeito significativo, ao nível de 5%, entre fungicidas, dosagens e interação fungicidas x dosagem. O desdobramento dos graus de liberdade mostrou o efeito de dosagens sobre fungicidas (Tabela 3).

Tabela 3. Médias da percentagem de inibição do crescimento micelial "in vitro" de *Colletotrichum* sp. observadas em cinco fungicidas recomendados para o tratamento de sementes e três dosagens.

DOSAGEM DO i.a. (ppm)	FUNGICIDAS				
	PCNB	PNCB + LESAN	RH 2161	CAPTAN	WL 47675
1	15,99 a*	1,89 b	0,00 c	3,99 b	3,52 b
10	60,93 b	51,75 a	12,23 b	9,17 b	3,05 b
100	74,82 a	56,93 a	71,29 a	45,03 a	38,58 a
Média	45,25 A	34,58 B	27,57 C	23,46 D	20,31 D

* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

** Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na vertical, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%. C.V.(%) = 11,38.

Dos fungicidas recomendados para o tratamento de sementes o mais eficiente foi o PCNB e a melhor dosagem foi 100 ppm.

DISCUSSÃO

Embora se tenha trabalhado com apenas um isolado de *Colletotrichum* e não se tenha feito testes de inoculação cruzada com outras leguminosas, os resultados, sob o ponto de vista da morfologia e dimensão dos conídios, concordam com os trabalhos de ARX (1), para a espécie *C. dematium*.

Para JOHNSON (6), a morfologia tem sido o principal critério de classificação e somente ela deve ser usada para delimitar espécies e taxa superiores. Com base no conceito amplo de espécie adotado por ARX (1) e na nomenclatura de *formae specialis* utilizado por KIMATI (8) e MENTEN (9) sugere-se a denominação de *Colletotrichum dematium* (sensu ARX, 1957) f.sp. *enterolobii* n.c. ao agente da antracnose da timbaúva.

Os resultados do efeito fungistático "in vitro" dos fungicidas

recomendados para tratamento da parte aérea demonstram que o Benomyl é o mais eficiente; no entanto, deve-se estar prevenido para a possibilidade do aparecimento de linhagens resistentes a Benomyl, o que já é conhecido para vários fungos (BOLLEN & FUCHS, 2; GEORGOPOULOS & DOVAS, 5; REMIRO & KIMATI, 13).

Os resultados do efeito fungistático "in vitro" dos fungicidas recomendados para tratamento de sementes demonstram que o PCNB, na dosagem de 100 ppm, é o mais eficiente em inibir o crescimento micelial de Colletotrichum sp.

CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos pode-se tirar as seguintes conclusões:

1. Em conformidade com conceitos taxonômicos modernos sugere-se ao isolado de Colletotrichum da timbaúva a denominação de Colletotrichum dematium (sensu ARX, 1957) f.sp. enterolobii n.c.
2. Os sintomas de antracnose da Timbaúva assemelham-se aos apresentados por outras antracnoses das leguminosas.
3. Para a inibição do crescimento micelial "in vitro" do C. dematium f. sp. enterolobii na parte aérea o fungicida Benomyl, nas dosagens de 1 a 10 ppm, destaca-se dos demais, enquanto, para o tratamento de sementes o PCNB, na dosagem de 100 ppm proporciona melhor resultado.

LITERATURA CITADA

1. ARX, J.A. von.- Die arten der gattung Colletotrichum Cda. Phytopathol. Z., 29:413-469, 1957.
2. BOLLEN, G.J. & FUCHS, A. - On the specificity of the "in vitro" antifungal activity of benomyl. Neth. J. Plant Pathol., 76:299-313, 1970.
3. EDGINGTON, L.V.; KHEW, K.L.; BARRON, G.L. - Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. Phytopathology, 61:42-44, 1971.
4. GALVÃO, F. - Contribuição para a auto-ecologia de Enterolobium contortisiliquum (Vell.) Morong (Timbaúva). Curitiba, Universidade Federal do Paraná, 1979. 86p. (Tese de Mestrado).
5. GEORGOPOULOS, S.G. & DOVAS, C. - A serious outbreak of strains of Cercospora beticola resistant to benzimidazole fungicides. Plant Disease Reporter, 57:321-324, 1973.
6. JOHNSON, T. - Host specialization as a taxonomic criterion. In: AINSWORTH, C.C. & SUSSMAN, A.S. (Ed.). The Fungi. An