



AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE *Colletotrichum* sp. À FUNGICIDAS SISTÊMICOS

Bárbara Maria Lustri¹; Natalia Caetano Vasques²; Cleilton Novais da Silva³; Edneia Aparecida de Souza Paccola⁴; Francielli Gasparotto⁵

¹Acadêmica do Curso de Agronomia, Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR, Maringá-PR. Bolsista PIBIC/Funadesp-UniCesumar.

²Acadêmica do Curso de Agronomia, UNICESUMAR. Bolsista PIBIC/UniCesumar.

³Pós-doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, UNICESUMAR, Maringá-PR.

⁴Co-orientadora, Profa. Dra do Programa de Mestrado em Tecnologias Limpas e do Curso de Agronomia, UNICESUMAR, Maringá-PR. Pesquisadora do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI.

⁵Orientadora, Profa. Dra do Programa de Mestrado em Tecnologias Limpas e do Curso de Agronomia, UNICESUMAR, Maringá-PR. Pesquisadora do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI.

RESUMO: O uso intensivo e sem critérios técnicos de fungicidas sistêmicos no combate de doenças na cultura da soja tem selecionado populações resistentes de patógenos, tornando o controle mais difícil e aumentando as perdas na cultura. Entre esses fungos, pode estar *Colletotrichum dematium* var. *truncata*, que é o agente causal da antracnose, doença que pode prejudicar a formação das vagens e conseqüentemente levar a perdas na produtividade desta leguminosa. Assim, objetivou-se avaliar a sensibilidade do agente causal da antracnose a fungicidas sistêmicos utilizados na cultura da soja. Para isso foi realizada uma pesquisa junto a cooperativas e produtores agrícolas da região de Maringá, e foi selecionado para os testes o fungicida piraclostrobina (250g/L). Em seguida foram realizados bioensaios para avaliar a sensibilidade do crescimento micelial de *C. dematium* var. *truncata* ao fungicida selecionado, nas concentrações de 1, 10, 50 e 100 ppm mais a testemunha. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com 2 tratamentos e 4 repetições. Os dados foram submetidos a uma análise de regressão, obtendo-se o ED50 (concentração do ingrediente ativo capaz de inibir 50% do crescimento micelial do isolado). Os resultados da inibição do crescimento micelial dos isolados do patógeno, indicaram que houveram diferenças na eficiência do fungicida entre os diferentes isolados e a testemunha. Como era esperado as maiores dosagens do fungicida promoveram menores crescimentos miceliais, diferindo da testemunha que apresentou o maior crescimento micelial. Metade dos isolados apresentaram baixa sensibilidade ao fungicida piraclostrobina e a outra metade foram insensíveis.

PALAVRAS-CHAVE: Antracnose; controle químico e resistência.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja (*Glycine max* (L.) Merr) e cada vez mais vem se destacando (USDA, 2017). Esta leguminosa é principal commodity comercializada pelo Brasil, fonte de alimentos para o homem e animais, matéria-prima para produção de cosméticos, produtos farmacêuticos, adesivos, fibras e também tem feito parte dos biocombustíveis (MISSÃO, 2006). Segundo a Conab (2017) a área cultivada com soja na safra 2016/2017 foi de 33.878,8 ha, com produção estimada em 107,61 toneladas e uma produtividade média de 3.176 kg/ha.

Como qualquer outra cultura, a soja está susceptível a diversas doenças que dificultam a obtenção de altos níveis de produtividade da cultura (ALMEIDA et al., 2005). Cerca de 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus já foram classificadas no Brasil (HENNING et al., 2005). Entre estas, a ferrugem asiática da soja (FAS), causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd., é uma das enfermidades mais rigorosas que acometem a cultura, gerando prejuízos que podem chegar em até 90% (YORINORI et al., 2005).

Destacam-se como estratégias de manejo para a ferrugem asiática no Brasil o emprego de cultivares resistentes, de ciclo precoce e semeadura no início da época indicada, a eliminação de plantas voluntárias, o vazio sanitário, o monitoramento da cultura, a utilização de fungicidas quando do



aparecimento dos sintomas ou de forma preventiva (BARBOSA, 2012). Segundo Almeida et al. (2005) a principal forma de controle utilizada para a ferrugem asiática é o controle químico com fungicidas sistêmicos do grupo dos triazóis e/ou mesostêmicos do grupo das estrobilurinas, ou produtos formulados a partir da combinação de princípios ativos pertencentes a estes dois grupos.

Godoy (2015) relata que existe no Brasil 110 fungicidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle da ferrugem asiática na cultura da soja. No entanto, de acordo com Carvalho (2010), o uso sucessivo destes produtos safra após safra acarretou em uma redução da eficiência de controle e uma elevação nos custos de produção. Ainda segundo os mesmos, esta situação provavelmente se deve ao aumento do número de aplicações e à seleção de populações de patógenos resistentes, devido a aplicações sucessivas de fungicidas com o mesmo princípio ativo ou devido ao uso de subdoses destes produtos.

A maioria dos estudos sobre controle e resistência de patógenos que afetam a cultura da soja concentra-se na ferrugem asiática, deixando de lado outras doenças que em condições favoráveis também podem causar prejuízos expressivos. Uma destas doenças é a antracnose (*Colletotrichum dematium* var. *truncata*), que afeta a fase inicial de formação das vagens e é favorecida por elevados índices de pluviosidade e altas temperaturas, principalmente nos estádios finais do ciclo da cultura (ALMEIDA et al., 2005).

Assim como para a ferrugem o controle da antracnose também se baseia no controle químico, sendo que de acordo com Ghini e Kimati (2000) o uso frequente de fungicidas leva a uma pressão de seleção que ocasiona problemas como a sensibilidade dos agentes causais aos fungicidas.

Quando alguns fungos se sentem ameaçados estes ativam dispositivos de variabilidade ligada à mutação ou reprodução sexual, por exemplo, para expressão de genes que ativem a insensibilidade ou resistência a fungicidas (LOPES et al., 2015). Pesquisadores tem se referido ao fenômeno da resistência como uma perda sensibilidade dos fungos aos produtos, resultando em uma diminuição da eficiência destes sob condições de campo (GHINI; KIMATI, 2000).

Desta forma, mostra-se essencial para um manejo eficiente da cultura da soja o desenvolvimento de estudos que avaliem a sensibilidade/resistência do fungo *Colletotrichum dematium* var. *truncata* as moléculas fungicidas utilizadas em seu cultivo, visando a redução de custos e menores impactos ao meio ambiente.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para avaliar a sensibilidade de *Colletotrichum* sp. a fungicidas, foram realizados testes in vitro, conduzidos no Laboratório de Fitopatologia do Unicesumar, Maringá-PR.

Inicialmente foi realizado um levantamento de dados sobre os fungicidas utilizados na cultura da soja na região de Maringá, este ocorreu junto às cooperativas e produtores agrícolas das áreas onde as amostras com plantas sintomáticas foram coletadas. Foi selecionado para os testes e condução dos bioensaios o fungicida piraclostrobina (250g/L).

Os isolados do patógeno *C. dematium* var. *truncata* foram obtidos a partir de plantas com sintomas típicos da doença, provenientes de Terra Rica, Ivaiporã e duas propriedades de Maringá, todas localizadas no estado do Paraná. As plantas foram coletadas de acordo com a sintomatologia padrão de antracnose e levadas ao laboratório, onde então foi realizado o isolamento do agente causal em cultura pura por meio do método de isolamento indireto (tecido sintomático).

Para avaliar a sensibilidade micelial do agente causal ao fungicida, o bioensaio foi implantado mediante a incorporação do fungicida no meio BDA (batata-dextrose-ágar) fundente, semelhante ao método descrito por Caldari Júnior (1998). O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com 2 tratamentos e 4 repetições, constituído pelo fungicida nas concentrações (1,10,50 e 100 ppm) e a testemunha (sem fungicida).

Para quantificar o crescimento do patógeno no meio com o fungicida realizou-se uma avaliação do diâmetro do crescimento micelial deste, medindo-se dois sentidos perpendiculares entre si no



décimo primeiro dia após a repicagem do fungo. Os dados foram submetidos a uma análise de regressão linear, obtendo-se o ED50 (concentração do ingrediente ativo capaz de inibir 50% do crescimento micelial do isolado) utilizando o logaritmo de cada concentração (0, 1, 10, 50, 100) do fungicida como variável dependente e o crescimento micelial como variável independente. Para determinação dos isolados mais sensíveis ao fungicida realizou-se a análise de variância e o teste Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando-se o programa SASM-Agri (CANTERI et al., 2001)

Com base nos dados de ED50 o fungicida foi classificado em quatro categorias de fungitoxicidade e sensibilidade in vitro, de acordo com a escala de Edgington et al. (1971) adaptada, em que: i) ED50 < 1 ppm: alta fungitoxicidade (AE) e alta sensibilidade (AS) ii) ED50 1 - 10 ppm: modera fungitoxicidade (ME) e moderada sensibilidade (MS) iii) ED50 10 - 50 ppm: baixa fungitoxicidade (BE) e baixa sensibilidade (BS) iv) ED50 > 50 ppm: não fungitóxico (I) e insensibilidade (IS).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os isolados de *Colletotrichum* sp. foram obtidos de plantas com sintomas típicos de antracnose na cultura de soja como os descritos por Ito (2013) vagens, folhas e hastes com manchas necróticas e folhas com escurecimento das nervuras (Figura 01).

Os resultados da inibição do crescimento micelial dos isolados do patógeno, indicaram que houveram diferenças na eficiência do fungicida entre os diferentes isolados e a testemunha. Como era esperado as maiores dosagens do fungicida promoveram menores crescimentos miceliais, diferindo da testemunha que apresentou o maior crescimento micelial (Figura 01).

LOPES et al. (2015) verificaram diferença no crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum gloesporioides* a fungicidas, entre eles piraclostrobina + epoxiconazol, sendo que quanto maior a dose do fungicida testado maior foi a inibição do patógeno avaliado, semelhante ao observado neste experimento

O fungicida piraclostrobina inibiu o crescimento micelial do fungo isolado em ambas as partes coletadas da planta (folhas, hastes e vagem), contudo, os isolados obtidos da haste (N3 e N4) foram os que apresentaram os menores valores em relação as diferentes concentrações (Figura 01).

[Capture a atenção do leitor com uma ótima citação do documento ou use este espaço para enfatizar um ponto-chave. Para colocar essa caixa de texto em qualquer lugar na página, basta arrastá-la.]

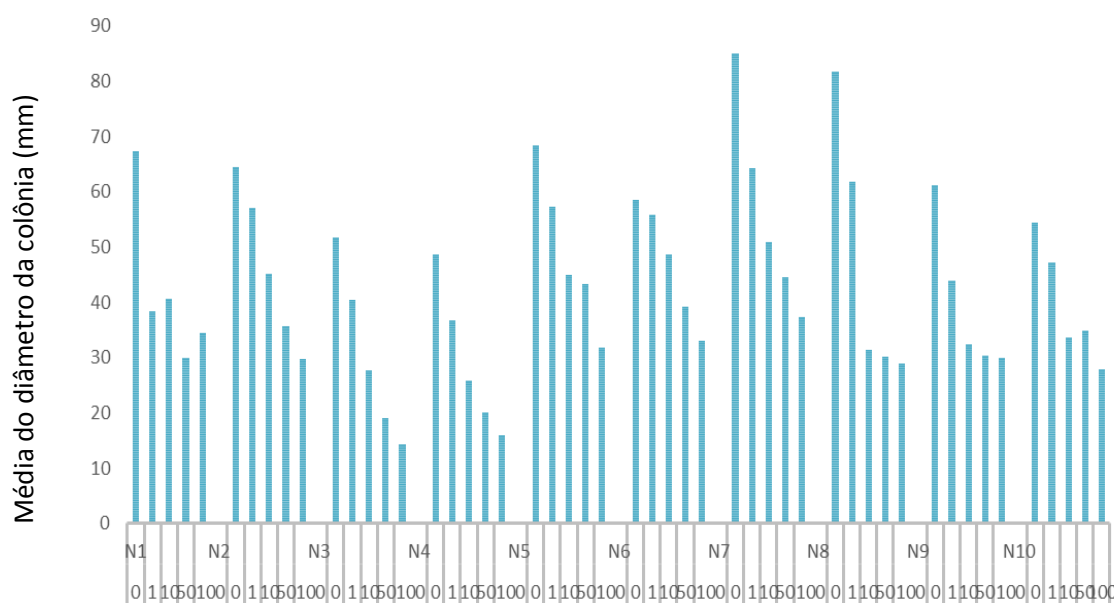


Figura 1. Crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum* sp. em meio de cultivo contendo o fungicida piraclostrobina em diferentes concentrações.



Apesar de ter ocorrido a inibição do patógeno pelo fungicida em relação a testemunha, quando avaliado o ED₅₀ do mesmo verificou-se que o produto apresentou baixa fungitoxicidade a cinco dos isolados avaliados e foi não fungitóxico para os demais isolados. Em relação ao patógeno, o mesmo apresentou baixa sensibilidade nos cinco isolados em que o fungicida apresentou BS, os demais isolados foram insensíveis ao produto testado (Tabela 01).

Tabela 01. Dose efetiva mediana (ED₅₀) e sua respectiva classificação de acordo com o fenótipo do isolado e a fungitoxicidade.

PIRACLOSTROBINA			
Isolados	ED ₅₀ ¹	Fenótipo ²	Fungitoxicidade ²
N1	39,71	BS	BE
N2	97,13	IS	I
N3	14,5	BS	BE
N4	20,99	BS	BE
N5	210,71	IS	I
N6	217,33	IS	I
N7	33,74	BS	BE
N8	13,16	BS	BE
N9	79,83	IS	I
N10	381,5	IS	I

¹ED₅₀ - quantidade do fungicida capaz de inibir o crescimento micelial a 50% em placas de Petri; ²Classificação de sensibilidade e fungitoxicidade: < 1 ppm: alta fungitoxicidade (AE) e alta sensibilidade (AS) ii) ED₅₀ 1 - 10 ppm: modera fungitoxicidade (ME) e moderada sensibilidade (MS) iii) ED₅₀ 10 - 50 ppm: baixa fungitoxicidade (BE) e baixa sensibilidade (BS) iv) ED₅₀ > 50 ppm: não fungitóxico (I) e insensibilidade (IS).

Estes resultados necessitam ser corroborados por pesquisas adicionais para comprovarem a insensibilidade do agente causal da antracnose quanto ao fungicida testado.

A resistência de fungos a fungicidas do grupo das estrubirulinas já foi relatada em diversos trabalhos, como o de Oliveira et al. (2015) que descrevem a resistência cruzada aos fungicidas azoxistrobina e piraclostrobina por *Pyricularia oryzae* em trigo no Brasil. Os autores afirmam que a elevada pressão de seleção exercida neste patógeno se deve aos anos consecutivos de aplicação de estrobirulinas para o manejo de doenças em trigo no Brasil. Fato que também pode estar ocorrendo na cultura da soja de acordo com o observado neste trabalho.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O crescimento dos isolados foi inversamente proporcional a dose do fungicida utilizado, isto é, quanto maior a dose menor o crescimento micelial.

Metade dos isolados apresentaram baixa sensibilidade ao fungicida piraclostrobina e a outra metade foram insensíveis.

Os isolados avaliados apresentaram variabilidade quanto a sensibilidade a molécula fungicida utilizada.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, J. T.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. E. V.; HENNING, A. A. Doenças da soja (*Glycine max*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L. BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REXZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de Fitopatologia. Volume 2: Doenças das Plantas Cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 569-588.

BARBOSA, G. F. Manejo integrado da ferrugem asiática da soja na região de Jaboticabal. 2012. 126 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, 2012.



CANTERI, M.G. et al. SASM-Agri - Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n2, p.18-24, 2001.

CALDARI JÚNIOR, P. **Caracterização morfológica, esporulação e sensibilidade a fungicidas de isolados de *Botrytis cinerea* de flores e plantas ornamentais**. 1998. 51 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CARVALHO, E. A. **Indutores de resistência no manejo da ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow & P. Sydow)**. 2010. 65 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, soja 2016/2017 sexto levantamento março/2017. Brasília: CONAB, 2017.

EDGINGTON, L.V.; KHEW, K.L.; BARRON, G.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, St. Paul, v.61, p.42-44, 1971.

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

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C. B. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2014/15: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Circular Técnica 113, Londrina, PR, 2015. 7p.

HENNING, A.A.; ALMEIDA, A.M.R.; GODOY, C.V.; SEIXAS, C.D.S.; YORINORI, J.T.; COSTAMILAN, L.M.; FERREIRA, L.P.; MEYER, M.C.; SOARES, R.M.; DIAS, W.P. **Manual de identificação de doenças de soja**. Londrina: **Embrapa Soja** (Embrapa Soja Documentos 256). 2005. 72p.

LOPES, L. N. S.; SILVA, A. S.; PEREIRA, C. C. O.; MENEZES, I. P. P.; MALAFAIA, G.; LIMA, M. L. P. Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum gloesporioides* a fungicidas. **Multi-Science Journal**, v.1, n. 1, p. 106-114, 2015.

MISSÃO, M. R. Soja: origem, classificação, utilização e uma visão abrangente do mercado. **Maringá Management: Revista de Ciências Empresariais**, v. 3, n.1, p.7-15, 2006. Disponível em: <<http://www.maringamanagement.com.br/novo/index.php/ojs/article/viewFile/54/28>> . Acesso em: 28/03/2017.

OLIVEIRA, C.S.; CASTROAGUDIN, L.V.; MACIEL, N.L.J.; PEREIRA, S.A.D.; CERESINI, C.P. Resistência cruzada aos fungicidas IQ0 azoxistrobina e piraclostrobin no patógeno da brusone do trigo *Pyricularia oryzae* no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 298-304, 2015.

YORINORI, J. T., PAIVA, W. M., FREDERICK, R. D., COSTAMILAN, L. M., BERTAGNOLLI, P. F., HARTMAN, G. E., GODOY, C. V., NUNES JR J. Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay. **Plant Disease**, v. 89, p. 675-677, 2005.

USDA – United States Department of Agriculture. **World Agricultural Supply and Demand Estimate**. WASDE - 563. p. 1-40, 2017.