

## SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS DE ISOLADOS DE *Corynespora cassiicola* PROVENIENTES DO ESTADO DE GOIÁS

### SENSITIVITY TO FUNGICIDES OF *Corynespora cassiicola* ISOLATES FROM GOIAS STATE, BRAZIL

TERAMOTO, A. <sup>1</sup>; MACHADO, T.A. <sup>2</sup>; NASCIMENTO, L.M. <sup>2</sup>; MEYER, M.C. <sup>3</sup>; CUNHA, M.G. <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Bolsista Pós-Doutorado CAPES programa PNPd, Universidade Federal de Goiás, EA/UFG, Goiânia, GO; e-mail: adriter@terra.com.br

<sup>2</sup> Escola de Agronomia, UFG, Goiânia, GO;

<sup>3</sup> Embrapa Soja, Goiânia, GO

#### Resumo

O fungo *Corynespora cassiicola*, agente causal da mancha-alvo em soja, pode, sob condições de alta temperatura e alta umidade, causar sérios danos à cultura. No Brasil, não se tem condições suficientes para um manejo adequado dessa doença, principalmente pela escassez de fungicidas foliares registrados e cultivares resistentes. Este trabalho foi realizado visando avaliar a sensibilidade *in vitro* de seis isolados de *C. cassiicola* oriundos do Estado de Goiás, aos fungicidas boscalida, carbendazim, ciproconazol, fluopyram, fluxapiroxade, prothioconazol e tiofanato-metílico, utilizados nas concentrações de 0; 0,01; 0,1; 1; 10 e 100 µg mL<sup>-1</sup> de ingrediente ativo (i.a.). Os fungicidas fluxapiroxade e fluopyram proporcionaram as maiores inibições de crescimento micelial (ICM) do patógeno *in vitro*, apresentando as menores doses efetivas capaz de inibir o crescimento micelial em 50% (DE<sub>50</sub>). O fungicida tiofanato-metílico foi incapaz de inibir o crescimento micelial do fungo nas concentrações avaliadas.

#### Introdução

No Brasil, o fungo *Corynespora cassiicola*, agente etiológico da mancha-alvo na soja, foi inicialmente detectado no Estado de São Paulo por Almeida et al. (1976). O patógeno infecta tanto a parte aérea como o sistema radicular e surtos severos têm sido observados, desde as zonas mais frias do sul às chapadas dos Cerrados (TECNOLOGIAS..., 2011). A mancha-alvo inicia com pontuações pardas, com halo amarelado, evoluindo para grandes manchas circulares, de coloração castanho-clara a castanho-escura, atingindo até 2 cm de diâmetro. (ALMEIDA et al., 2005).

As medidas de manejo recomendadas são: o uso de cultivares resistentes, o tratamento de sementes, a rotação/sucessão de culturas com milho e outras espécies de gramíneas e fazer o controle com fungicidas foliares (TECNOLOGIAS..., 2011).

Desta forma, o presente trabalho teve por objetivos avaliar a sensibilidade *in vitro* de seis isolados de *C. cassiicola* a sete fungicidas.

#### Material e Métodos

##### Caracterização da área experimental

Os trabalhos foram realizados no laboratório do Núcleo de Pesquisas em Fitopatologia, pertencente à Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia, GO.

##### Obtenção dos isolados

Nos ensaios foram utilizados seis isolados de *C. cassiicola* denominados MO07, MO19, MO27, RV01, MV01 e RV02. Os isolados MO07, MO19 e MO27 foram provenientes de Morrinhos, GO; RV01 e RV02 de Rio Verde, GO e MV01 de Montividiu, GO. Todos os isolados foram obtidos de folhas de soja com sintomas típicos da mancha-alvo, isolados primeiramente em meio ágar-água (AA), seguido da repicagem dos bordos do crescimento micelial para meio

de batata-dextrose-ágar (BDA), sendo posteriormente devidamente preservados pelo Método Castellani (Castellani, 1939, citado por FIGUEIREDO, 1967).

### **Inibição *in vitro* de *Corynespora cassiicola***

Para a inibição *in vitro*, foram testados em laboratório os fungicidas sistêmicos boscalida, carbendazim, ciproconazol, fluopyram, fluxapiraxade, protioconazol e tiofanato-metílico, nas concentrações de 0,01; 0,1; 1; 10 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de ingrediente ativo (i.a.). No caso do carbendazim e tiofanato-metílico foram utilizadas concentrações maiores 0,1; 1; 10; 100 e 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de ingrediente ativo (i.a.). A maioria destes fungicidas é registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para a cultura da soja, porém para outras doenças fúngicas. Os fungicidas foram previamente preparados em solução estoque de 10 mL em água esterilizada de cada concentração de cada produto em tubos de ensaio, antes de serem incorporados ao meio BDA fundente. A primeira concentração de fungicida a ser preparada foi a de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , sendo a quantidade calculada de fungicida acrescida à água esterilizada, devidamente agitada, seguido da transferência de 1,0 mL desta para outro tubo contendo 9 mL de água (diluição em série). Esse procedimento foi repetido até obter-se a menor concentração (0,01  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). As placas testemunhas continham apenas BDA. Após o preparo dos meios com as respectivas concentrações de fungicidas, discos de micélios de 6 mm de diâmetro dos isolados MO07, MO19, MO27, RV01, MV01 e RV02 de *C. cassiicola* foram retirados das bordas das colônias com aproximadamente 10 dias de idade e transferidos para os diferentes meios (com e sem fungicida). As placas foram incubadas a 25°C, sob escuro contínuo. Cada tratamento constou de cinco repetições, sendo cada placa uma repetição. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. O crescimento micelial foi calculado através da média do raio de dois diâmetros transversos a cada dois dias durante dez dias. Com os dados obtidos da última leitura determinou-se a inibição de crescimento micelial:  $\text{ICM} = 100 - (\text{raio da concentração } i \times 100) / \text{raio da concentração } 0$ , onde *i* corresponde ao raio das concentrações testadas. Em seguida, a dose efetiva capaz de inibir o crescimento micelial em 50% ( $\text{DE}_{50}$ ) para cada tratamento foi estimada por meio da utilização dos parâmetros calculados pela regressão do ICM versus o  $\log_{10}$  da concentração do fungicida. Para cada isolado foi calculada a  $\text{DE}_{50}$  correspondente ao fungicida. A classificação dos fungicidas quanto à toxicidade, foi realizada de acordo com os parâmetros adotados por Edgington & Klew (1971), que considera altamente tóxico o fungicida que obter o  $\text{DE}_{50} < 1 \mu\text{g mL}^{-1}$ ; de 1 a 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , moderadamente tóxico, e,  $> 50 \mu\text{g mL}^{-1}$ , não tóxicos.

### **Resultados e Discussão**

O fungicida fluxapiraxade foi considerado altamente fungitóxico para todos os isolados, segundo a classificação de Edgington & Klew (1971), com o valor da  $\text{DE}_{50}$  variando de  $4,3 \times 10^{-7}$  a  $1,3 \times 10^{-2} \mu\text{g mL}^{-1}$ , seguido do fluopyram ( $5,2 \times 10^{-2}$  a 0,65) e boscalida (0,15 a 0,67). O fungicida protioconazol foi classificado como altamente tóxico apenas para os isolados RV01, RV02, MV01 e MO19, assim como o carbendazim para MO19, MO27 e MV01. Fungicidas considerados como medianamente tóxicos foram: ciproconazol (variou de 1,6 a 31,27), protioconazol para os isolados MO07 ( $\text{DE}_{50}=2,79$ ) e MO27 ( $\text{DE}_{50}=1,04$ ) e o boscalida, para o isolado RV02 ( $\text{DE}_{50}=1,26$ ). Apenas o tiofanato-metílico foi classificado como não tóxico para todos os isolados (variou de  $2,6 \times 10^{26}$  a  $1,1 \times 10^7$ ). O carbendazim apresentou-se não tóxico para os isolados MO07 ( $\text{DE}_{50}=6,9 \times 10^4$ ), RV01 ( $\text{DE}_{50}=1,8 \times 10^{14}$ ) e RV02 ( $\text{DE}_{50}=6,9 \times 10^3$ ) (Tabela 1).

Assim, os fungicidas fluxapiraxade, fluopyram e o boscalida foram os mais eficientes apresentando altos valores de inibição do crescimento micelial (ICM) de *C. cassiicola in vitro*. O fluxapiraxade e o fluopyram pertencem ao grupo químico das carboxamidas e atuam na inibição da respiração mitocondrial. O boscalida pertence ao grupo químico das anilidas e também atua da mesma forma.

O protioconazol é um triazolintione, que interfere na síntese do ergosterol, que também foi bastante efetivo na inibição do crescimento micelial. Já o ciproconazol, que é um triazol e atua na inibição da demetilação do lanosterol até compostos intermediários, precursores do ergosterol obteve apenas resultados medianos, em concordância com os obtidos por Avozani (2011), porém com isolados de regiões diferentes.

O carbendazim, do grupo químico dos benzimidazóis, atua nos fungos pela inibição de proteínas específicas,  $\alpha$  e  $\beta$  tubulinas (COUTINHO et al., 2006), apresentou resultados variados, pois não foi considerado tóxico para três isolados. Mais uma vez estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Avozani (2011). E, por fim, o tiofanato-metílico, também do grupo químico dos benzimidazóis, age pela interferência na síntese do DNA ou com o processo de divisão celular ou nuclear (PICININI, 1994). Este não foi considerado fungitóxico para todos os isolados de *C. cassiicola* testados, o que significa que os isolados testados são resistentes ao fungicida utilizado, assim como constatado por Pereira (2009) e Teramoto et al. (2011). Pereira (2009) ainda concluiu que houve pressão de seleção no campo pelo uso intensivo deste grupo de fungicida.

Os resultados dos experimentos *in vitro* servem para indicar a sensibilidade dos isolados às moléculas químicas, contudo, o comportamento fisiológico do fungo poderá se expressar de forma diferente e contraditória em interações no campo.

**Tabela 1.** Dose efetiva capaz de inibir o crescimento micelial em 50% (DE<sub>50</sub>) de seis isolados de *Corynespora cassiicola* provenientes de soja. Goiânia, EA/UFG, 2012.

Fungicidas	DE <sub>50</sub> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )					
	MO07 <sup>1</sup>	MO19	MO27	RV01	RV02	MV01
Boscalida	0,58	0,49	0,67	0,15	1,26	0,40
Carbendazim	6,9x10 <sup>4</sup>	<0,01	0,32	1,8x10 <sup>14</sup>	6,9x10 <sup>3</sup>	<0,01
Ciproconazole	16,57	18,76	31,27	1,60	10,49	3,90
Fluopyran	0,46	0,65	0,35	0,28	0,05	0,11
Fluxapyroxade	0,01	0,04	0,009	1,4x10 <sup>-7</sup>	2,1x10 <sup>-3</sup>	4,3x10 <sup>-7</sup>
Protioconazole	2,79	1,3x10 <sup>-3</sup>	1,04	1,7x10 <sup>-4</sup>	0,24	0,10
Tiofanato metílico	1,7x10 <sup>14</sup>	4,4x10 <sup>9</sup>	6,1x10 <sup>8</sup>	3,1x10 <sup>16</sup>	2,6x10 <sup>32</sup>	1,1x10 <sup>7</sup>

<sup>1</sup>MO07, MO19 e MO27= isolados de Morrinhos, GO; RV01 e RV02= isolados de Rio Verde, GO e MV01= isolado de Montividiu, GO.

## Conclusões

- O fungicida fluxapyroxade e fluopyran proporcionaram as maiores inibições de crescimento micelial (ICM) do patógeno *in vitro* e as menores doses efetivas capaz de inibir o crescimento micelial em 50% (DE<sub>50</sub>).
- O fungicida tiofanato-metílico foi incapaz de inibir o crescimento micelial do fungo.

## Referências

ALMEIDA, A.M.R., FERREIRA, L.P., YORINIRI, J.T., SILVA, J.F.V., HENNING, A.A., GODOY, C.V., COSTAMILAN, L.M., MEYER, M.C. Doenças da Soja. In: KIMATI, H. ; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). Manual de fitopatologia. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2, p.569-588.

ALMEIDA, A.M.R.; MACHADO, C.C.; FERREIRA, L.P.; LEHMAN, P.S.; ANTONIO, H. Ocorrência de *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília: SBF, v. 1, p. 111-112, 1976.

AVOZANI, A. **Sensibilidade de *Corynespora cassiicola*, isolados de soja, a fungicidas *in vitro***. Passo Fundo: UPF. 133p (Tese mestrado), 2011.



COUTINHO, C.F.B.; GALLI, A.; MAZO, L.H.; MACHADO, S.A.S. Carbendazim e o meio ambiente: degradação e toxidez. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.16, p. 63-70, 2006.

EDINGTON, L.V.; KLEW, K.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, St. Paul, v. 61, p. 42-44, 1971.

FIGUEIREDO, M.B. Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. **O Biológico**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 9-13, 1967.

PEREIRA, A.V.S. **Sensibilidade a fungicidas e adaptabilidade de *Lasiodiplodia theobromae* patogênico ao mamão**. Recife: UFRPE. 57p, 2009. (Tese mestrado).

PICININI, E.C. Fungicidas benzimidazoles. **RAPP**, Passo Fundo, v. 2, p. 357-409, 1994.

**TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA** – região central do Brasil 2012 e 2013. - Londrina: Embrapa Soja, 2011. 262 p. (Sistemas de Produção / Embrapa Soja, ISSN 2176-2902; n.15)

TERAMOTO, A.; MARTINS, M.C.; FERREIRA, L.C.; CUNHA, M.G. Reaction of hybrids, inhibition *in vitro* and target spot control in cucumber. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p.342-348, 2011.