

TAVARES, S. C. C. de H.; CRUZ, S. C. da; COSTA, N. D.; SILVA, P. C. G. da C.; LIMA, M. L. C.; NEVES, R. A. F. das; SANTOS, C. A. P. dos. Metodologia para Avaliação "In Vitro" de Produtos no Controle de Patógenos. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 19 (suplemento), CD-ROM, julho 2001.

Metodologia para avaliação "in vitro" de produtos no controle de patógenos

TAVARES, S. C. C. de H.; CRUZ, S. C. da; COSTA, N. D.; SILVA, P. C. G. da C.; LIMA, M. L. C.; NEVES, R. A. F. das; SANTOS, C. A. P

Embrapa Semi-Árido, C.P. 23, CEP 56300-970 Petrolina PE. E-mail: selmaht@cpatsa.embrapa.br

RESUMO

Foram testadas duas técnicas metodológicas de avaliação de eficiência "in vitro" de produtos químicos e biológicos ao *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, patógeno da cebola, agente da antracnose ou mal-de-sete-voltas. As técnicas foram: 1) Produtos em Disco de Papel- PDP, papel de filtro em discos, foram embebidos na suspensão dos produtos em concentração desejada e colocados sobre o meio de cultura, em placas de Petri, em posição diametralmente oposta ao disco de colônia do patógeno; 2) Produtos Difundidos em Meio de cultura-PDM- neste, suspensões dos produtos foram vertidas no meio de cultura em temperatura fundente, nas concentrações desejadas, e, logo após a solidificação, receberam um disco de colônia do patógeno. As avaliações revelaram uma não coincidência de resultados entre as técnicas, com perdas de informações pela Técnica 1, apresentando a Técnica 2 um maior número de tratamentos eficientes ao controle do patógeno, indicando esta ultima como indispensável nesta linha de estudo.

Palavras chave: *Alium cepa L., antracnose da cebola.*

ABSTRACT

"In vitro" evaluation of the efficiency of products used for antracnosis control in onions.

Tests were carried out "in vitro" on two methodological techniques of evaluations the efficiency of biological and chemical products to *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, control. The techniques were: 1) Products in Paper Disc - filter paper discs were imbibed in suspension of products in same concentration and put on culture medium in a Petri dish, in diametral position; in relation to the pathogen colony disc; 2) Products diffused in culture medium - suspensions of products were spilled in culture medium, at melting temperature, in fixed concentrations and immediately after solidification received a pathogen colony disc. The results were not coincident for the techniques, since the second technique

resulted in a greater number of efficient treatments in controlling the pathogen, being showing this technique essential to this kind of study.

A demanda pelas empresas de produtos químicos por avaliações de eficiência agrônômica de seus produtos, testando-os frente aos patógenos em diversas culturas, tem aumentado significativamente, em função das pressões de mercado para a utilização de produtos registrados, e de uma exigência ministerial pelos referidos testes. Na literatura, são vários os trabalhos encontrados com a realização de testes "in vitro", como Cruz *et al.* 1999; Lima & Tavares 1999ab; e outros. Para a realização destes testes, não existe uma metodologia unificada, são vários os métodos utilizados entre os pesquisadores e as instituições. Visando padronizar o uso de técnica nos testes "in vitro" e indicar a mais eficiente, objetivou-se neste trabalho, comparar as técnicas de disco de papel de filtro, e de difusão dos produtos em meio de cultura.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Embrapa Semi-Árido, onde avaliou-se duas técnicas, 1 - disco de papel de filtro; e 2 - difusão do produto em meio de cultura, de dez produtos químicos e um biológico no controle do patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da antracnose da cebola. Os tratamentos foram: 1-Folpet 270g; 2-Captan 240g; 3-Tiofanato metílico 70g; 4-Chlorotalonil+Fentin acetato 200g; 5-Chlorotalonil+Fentin acetato 250 g; 6-Iminoctadine tris(albesilate) 100 ml; 7-Iminoctadine tris(albesilate) 150ml; 8-Procimidone 100 g; 9-Procimidone 150g; 10-Imibenconazole 75 g; 11-Imibenconazole 100 g; 12-Fentin acetate 50 g; 13-Fentin acetate 80 g; 14-Chlorotalonil 300 g; 15-Benomyl 100 g; 16-T-FRUT + T-25 200 ml; e 17- a testemunha (*Colletotrichum gloeosporioides*) aplicados da seguinte forma: técnica 1- discos de papel de filtro foram cortados com aproximadamente 5 mm de diâmetro, autoclavados e imersos em suspensão dos produtos preparados em água destilada esterilizada e colocados nas extremidades das placas de Petri sobre o meio BDA. Em seguida, colocou-se também, discos de igual diâmetro de colônias do patógeno com dez dias de idade, na outra extremidade da placa em posições equidistantes; técnica 2- os produtos foram pesados e diluídos em 100 ml de meio BDA, em temperatura fundente, sendo em seguida distribuídos em placas de Petri. Colônias do patógeno com dez dias de idade, em disco de 5 mm foram colocadas sobre o meio contendo os fungicidas em difusão, no centro da placa de Petri. O delineamento estatístico foi blocos inteiramente casualizado com 17 tratamentos, incluindo testemunha e quatro repetições. As avaliações foram realizadas aos 05, 15 e 30 dias de incubação à temperatura ambiente em torno de 25º C, medindo-se o halo de inibição do patógeno (Técnica 1) e o crescimento micelial do patógeno

(Técnica 2). Caracterizando como os mais eficientes aqueles produtos que apresentassem a maior medida de halo de inibição ou de menor medida de crescimento micelial. Os dados de leituras foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

A tabulação dos dados das três leituras, foi processada e possibilitou verificar algumas diferenças entre as duas técnicas utilizadas, conforme a Tabela 1.

Tabela 1- Diâmetros médios do halo de inibição e raios médios de crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, através de duas técnicas.

TRATAMENTO	HALO DE INIBIÇÃO DO PATÓGENO/cm				RAIO DE CRESCIMENTO MICELIAL/cm			
	PERÍODO DE LEITURA / DIAS TÉCNICA I *				PERÍODO DE LEITURA / DIAS TÉCNICA 2**			
	5	15	30	x	5	15	30	x
1. Folpet 270g	3.86 b	1.46 bc	0.00 b	1.77	1.22 bc	2.30 cdef	2.91 bcd	2.14 bcd
2. Captan 240g	3.90 b	0.89 c	0.12 b	1.63	0.75 a	1.25 ab	2.12 b	1.37 ab
3. Tiofanato metílico 70g	3.68 b	0.37 c	0.00 b	1.35	2.10 d	3.90 h	4.18 fg	3.39 e
4. Chlorotalonil+ Fentin acetato 200g	3.77 b	0.00 c	0.00 b	1.25	1.25 bc	1.71 bcd	2.72 bc	1.89 abcd
5. Chlorotalonil+ Fentin acetato 250g	4.36 ab	0.50 c	0.00 b	1.62	1.10 ab	1.55 abc	2.17 b	1.60 abc
6. Iminoctadine tris(albesilate) 100ml	4.43 ab	0.72 c	0.00 b	1.72	1.22 bc	2.07 bcde	2.92 bcd	2.07 bcd
7. Iminoctadine tris(albesilate) 150ml	4.16 ab	1.47 bc	0.52 b	2.05	1.18 b	2.03 bcde	2.90 bcd	2.04 bcd
8. Procimidone 100g	4.60 ab	0.67 c	0.00 b	1.75	1.30 bc	3.66 h	4.40 fg	3.12 def
9. Procimidone 150g	4.58 ab	0.66 c	0.22 b	1.82	1.41 bc	2.36 def	3.68 defg	2.48 bcde
10. Imibenconazole 75g	4.93 ab	0.85 c	0.00 b	1.92	1.36 bc	3.43 gh	3.81 efg	2.87 cde
11. Imibenconazole 100g	4.81 ab	2.06 ab	0.00 b	2.29	1.57 c	3.25 gh	3.62 defg	2.81 cde
12. Fentin acetate 50g	4.33 ab	0.65 c	0.00 b	1.66	1.20 bc	1.53 abc	2.72 bc	1.82 bc
13. Fentin acetate 80g	4.37 ab	0.66 c	0.00 b	1.67	1.21 bc	1.51 abc	2.38 b	1.70 abc
14. Chlorotalonil 300g	4.26 ab	1.07 c	0.00 b	1.77	1.43 bc	3.10 fgh	3.37 cde	2.63 bcde
15. Benomyl 100g	4.38 ab	0.42 c	0.00 b	1.60	1.53 c	2.66 efg	3.56 de	2.58 bcde
16. T FRUT + T 25 200ml	5.48 a	4.11 a	3.56 a	4.38	0.68 a	0.81 a	0.81 a	0.77 a
17. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00	2.10 d	3.90 h	4.18 fg	3.39 e

* Técnica 1. Imersão de discos de papel de filtro nos produtos. (c.v. =22%)

** Técnica 2. Difusão do produto em meio de cultura. (c.v. = 20%)

Medidas seguidas das mesmas letras nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade

Os resultados, entre os produtos químicos, observados na Técnica 1, não revelaram correlação, quando observa-se que os produtos que foram eficientes pela Técnica 2 não o foram pela Técnica 1. Talvez, considerando o tempo útil para plena eficiência de cada produto, estes possam ser prejudicados quando utiliza-se a Técnica 1, uma vez que a distância entre os dois discos, papel de filtro com o produto e a colônia do patógeno, requer um tempo até que este chegue próximo ao raio de efeito dos produtos. O contrário acontece quando pela Técnica 2, ou seja, o patógeno entra imediatamente em

contato com os efeitos dos produtos. Contudo, o tratamento 16 apresentou o maior halo de inibição do patógeno e também o menor raio de crescimento micelial, combinando perfeitamente os resultados entre as duas técnicas utilizadas. Na Técnica 1 tem-se aos 05 dias, destaque para dezesseis tratamentos inibindo o patógeno, contudo, aos 15 dias quando o patógeno já estava mais próximo do disco com os produtos apenas tinha-se o biológico *Trichoderma* spp. 200g / 100L - tratamento 16 e o químico Imibenconazole 100g /100 L - tratamento 11. Estando aos 30 dias , apenas o biológico mantendo tal eficiência de controle ou de inibição do patógeno. Esta técnica 1 portanto limita a atuação de produtos químicos, mascarando a atuação de alguns deles como por exemplo: Captan; Chlorotalonil + Fentin acetato e Fentin acetato, que apresentaram eficiência de controle quando na Técnica 2.

A Técnica DPM - Difusão dos Produtos em Meio de cultura, foi a mais adequada nesta linha de estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CRUZ, S. C. ; TAVARES, S. C; C; de H.; MENEZES, W.A ; COSTA, N. D. Avaliação " in vitro" de alguns fungicidas químicos e biológicos no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. em cebola *Fitopatologia Brasileira* v.24,n.199, p. 278. Curitiba-PR, Agosto de 1999.
- LIMA, J.A.S.; TAVARES, S.C.C de H Avaliação de fungicidas "in vitro" e "in vivo" no controle de *Botryodiplodia theobromae* Pat. na região do Submédio São Francisco. *Fitopatologia Brasileira* v.24, n. 312,p. 298. Curitiba-PR, Agosto de 1999a.
- LIMA, J.A.S.; TAVARES, S.C.C de H Efeito "in vitro" de algas marinha sobre *Fusarium* sp. isolado de mangueira com malformação floral na região do Submédio São Francisco. *Fitopatologia Brasileira* v.24, n. 313, p. 298. Curitiba-PR, Agosto de 1999.
- MARANHÃO, E. H. de A.; WANDERLEY, L. J. da G. & MARANHÃO, E. A. de A. Controle químico do "Mal-de sete-voltas" em cebola, causado por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, no Estado de Pernambuco. *Horticultura Brasileira*, v. 9, n. 1, p. 45, 1991.
- PEIXOTO, A. R.; M. KARASAWA.; S. C. C. de H. TAVARES & O. S. MOURA. Ação de isolados de *Trichoderma* spp. e *Pseudomonas* spp. fluorescentes sobre *Sclerotium rolfsii*. *Fitopatologia Brasileira* 21 (SUPLEMENTO), n. 412, p.403, agosto, 1996b.
- TAVARES, S. C. C. de H.; LIMA, J. S.; ASSUNÇÃO, I. P. & PEREZ, O. J. Controle biológico de alguns fitopatógenos do solo no tomateiro. *IV SICONBIOL*, Gramado-RS, p.65, maio, 1994.

TAVARES, S. C. C. de H.; PREZOTTI, J. C. G. de O. & LIMA, J. A. S. *Trichoderma* spp. no controle de fitopatógenos de solo na cultura do tomate em áreas de pequeno produtor. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.13, n. 1, p.119, maio, 1995.

TAVARES, S.C.C. de H.; LIMA, J.A.S.; PRADO, R. J.; COELHO, R.S.B. & CRUZ, S. C. da. Sensibilidade "in vitro" de *Trichoderma* spp. a fungicidas, inseticidas e herbicidas comerciais utilizados na cultura do tomateiro. *VI SICONBIOL*, p.21, maio, 1998a.