



SENSIBILIDADE DE *Amphobotrys ricini* À TIOFANATO-METÍLICO E FLUAZINAM

Caroline de Oliveira **Datovo**¹; Dartanhã José **Soares**²

Nº 16413

RESUMO – *Amphobotrys ricini* é o agente causal do mofo cinzento da mamoneira, uma das doenças mais importantes dessa cultura. O uso de fungicidas é uma das principais alternativas para o manejo de doenças de plantas, no entanto, não existem informações sobre sensibilidade de *A. ricini* aos produtos disponíveis no mercado. O objetivo do presente trabalho foi determinar a sensibilidade de *A. ricini* aos fungicidas tiofanato-metílico e fluazinam por meio da determinação da dose efetiva para inibir 50% de seu crescimento micelial (DE₅₀). Discos de micélio (6 mm), obtidos a partir das margens de colônias com 4 dias de cultivo, foram transferidos para placas de Petri contendo meio Batata-Dextrose-Agar acrescido dos fungicidas em diferentes concentrações. As placas foram então mantidas em câmaras de crescimento à 25 ± 1 °C e escuro contínuo. As avaliações consistiram de duas medições perpendiculares do diâmetro do crescimento micelial dos tratamentos e da testemunha (BDA sem adição dos fungicidas). Para cada uma das combinações isoladoxfungicidaxconcentração foi calculada a porcentagem de inibição do crescimento (PIC). Com os valores de PIC foram obtidas as equações de regressão para determinação da DE₅₀ de cada isolado. A DE₅₀ para tiofanato-metílico foi 0,3591 ± 0,0903 µg/mL, e para fluazinam foi 0,1654 ± 0,0879 µg/mL. As DE₅₀ obtidas no presente estudos permitem concluir que os fungicidas avaliados possuem uma alta toxicidade intrínseca a *A. ricini* e poderão ser uma alternativa viável para o manejo da doença, desde que confirmada sua eficácia em condições de campo.

Palavras-chave: *Botryotinia ricini*, controle químico, mamoneira, mofo cinzento

1 Autor: Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, PUCCAMP, Campinas-SP; carolinedatovo@hotmail.com
2 Orientador: Pesquisador da Embrapa Algodão, Campina Grande -PB; dartanha.soares@embrapa.br



ABSTRACT – *Amphobotrys ricini* is the causal agent of castor gray mold, one of the most destructive diseases of castor crops. Fungicides are frequently used to manage plant diseases, however no information on the baseline of *A. ricini* to fungicides is available. The aim of the present work was to determine the baseline of *A. ricini* to the fungicides thiophanate-methyl and fluazinam. Mycelial disc (6 mm) removed from 4-day-old colonies were transferred to Petri dishes containing Potato-Dextrose-Agar (PDA) amended with the fungicides in different concentrations. The Petri dishes were then maintained in the dark for 4 days at 25 ± 1 °C. The evaluation consisted of two perpendicular measurements of the radial fungus growth, which were used to calculate the percentage of mycelial growth inhibition for each treatment (isolatexfungicidexconcentration) related to the control. The data of the percentage of mycelial growth inhibition were used to obtain the effective concentration to inhibit 50 % of the fungus mycelial growth (EC50) by means of linear regression. The EC50 for thiophanate-methyl was 0.3591 ± 0.0903 µg/mL, and for fluazinam 0.1654 ± 0.0879 µg/mL. Based on the EC50 obtained in the present work, it was possible to conclude that both fungicides have high intrinsic toxicity to *A. ricini* and they could be an alternative to manage the disease once their efficiency have been corroborated under field condition.

Keywords: *Botryotinia ricini*, chemical control, castor gray mold.

1 INTRODUÇÃO

O mofo cinzento da mamoneira, cujo agente etiológico é o fungo *Amphobotrys ricini* (N. F. Buchw.) Hennebert, é uma das doenças economicamente mais importantes desta cultura em virtude da rápida e completa destruição dos cachos. Esta doença está presente em praticamente todos os países produtores de mamona e, dependendo das condições climáticas, durante o florescimento e desenvolvimento dos frutos, pode ocasionar até 100% de perda da produção (SOARES, 2012). No Brasil o mofo cinzento ocorre em quase todas as regiões produtoras, em menor ou maior grau de intensidade, dependendo das condições climáticas durante a fase de florescimento e formação de frutos (SOARES, 2012). Apesar disso, os estudos sobre manejo do mofo cinzento ainda são poucos e, conseqüentemente, medidas preventivas e/ou curativas que sejam plenamente eficazes contra a doença são inexistentes. Como forma de diminuir os danos causados pela doença recomenda-se o uso de cultivares resistentes, tratamento das sementes antes do plantio, eliminação de restos culturais e hospedeiros alternativos, plantio evitando que as



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

fases de florescimento e enchimento dos frutos coincidam com as épocas chuvosas, além da aplicação de fungicidas (LIMA et al., 2001; SOARES, 2012). A aplicação de fungicidas químicos, para o controle de doenças de plantas, é uma das práticas mais difundidas na agricultura, principalmente devido a sua rápida resposta e eficácia. A eficácia do uso dos fungicidas para o manejo de doenças é indiscutível, no entanto, algumas vezes são observadas falhas, no controle de determinado patógeno, que muitas vezes é erroneamente interpretado como um caso de surgimento de resistência. Contudo, em muitos casos, tal falha deve-se ao erro de dosagem na aplicação do produto, problemas de calibragem do equipamento de pulverização, diagnóstico incorreto do patógeno, utilização de produtos não recomendados, produto deteriorado, condições climáticas desfavoráveis entre outras, sendo que a utilização de produtos sabidamente eficazes e na dosagem correta é uma das principais formas de minimizar tais problemas (BRENT, 1995; GHINI & KIMATI, 2000). Assim sendo, estudos visando a determinação da sensibilidade de fungos à fungicidas são um dos primeiros passos para a adoção de estratégias eficazes para o manejo adequado de doenças em plantas. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a sensibilidade de *A. ricini* aos princípios ativos tiofanato-metílico e fluazinam, por meio da determinação da dose efetiva para inibição de 50% de seu crescimento micelial.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos isolados

Os isolados de *A. ricini* avaliados no presente estudo foram obtidos, durante os anos de 2009 a 2015, a partir de amostras sintomáticas de inflorescências e frutos de mamoneira coletados em diferentes regiões do Brasil, e mantidos na Coleção de Culturas de Microrganismos Fitopatogênicos da Embrapa Algodão. Foram avaliados 47 isolados, oriundos de oito municípios de seis estados brasileiros (Tabela. 1).

2.2 Ensaios de sensibilidade *in vitro*

Para a realização dos ensaios de sensibilidade foram utilizados dois fungicidas comerciais sendo um pertencente ao grupo químico dos benzimidazoles (tiofanato-metílico) e outro pertencente ao grupo químico das fenilpiridinamina (fluazinam). Os produtos comerciais foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) e preparadas soluções estoque, as quais após adicionados ao meio de cultura fundente correspondiam as concentrações de 0, 0,09375, 0,1875,



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

0,375, 0,750 e 1,50 µg do ingrediente ativo por mL. Em todas as concentrações, incluindo os controles, a concentração final de DMSO no meio de cultura foi de 1% (v/v).

Tabela 1. Origem dos isolados de *Amphobotrys ricini* utilizados para avaliar a sensibilidade ao fungicidas tiofanato-metílico e fluazinam.

ORIGEM - ESTADO	MUNICÍPIO	NÚMERO DE ISOLADOS
GOÍAS (GO)	RIO VERDE	3
MARANHÃO (MA)	BALSAS	1
MATO GROSSO (MT)	PRIMAVERA DO LESTE	12
PARAÍBA (PB)	AREIA	1
	CAMPINA GRANDE	2
SÃO PAULO (SP)	JAGUARIÚNA	3
	PINDORAMA	7
RIO GRANDE DO SUL (RS)	PELOTAS	18

Discos de micélio com 6 mm de diâmetro, removidos das margens de colônias com 4 dias de idade, foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo o meio batata-dextroseagar (BDA) acrescido dos fungicidas nas diferentes concentrações. Placas de Petri contendo BDA sem adição dos fungicidas foram usadas como controle. Foram utilizadas três repetições para cada combinação isoladoxfungicidaxconcentração. Após incubação por 96 horas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, no escuro, o crescimento radial de cada colônia (diâmetro) foi medido em dois sentidos perpendiculares, dos quais se subtraiu o diâmetro do disco de micélio (6 mm). A partir dos dados do crescimento radial foi calculada a percentagem de inibição do crescimento micelial em relação ao controle para todas as concentrações de cada fungicida. A dose efetiva para inibir 50 % do crescimento micelial (DE50), de cada isolado e fungicida, foi obtida por meio de regressões lineares dos percentuais de inibição do crescimento micelial versus o \log_{10} de cada concentração de cada fungicida utilizando-se os software R v.3.2 e o pacote estatístico SAS® v.9.0. Foi também estabelecida a frequência de distribuição dos isolados entre os intervalos de DE50 para cada fungicida.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resposta da sensibilidade de *A. ricini* variou entre os fungicidas. Não foi verificado o efeito da origem dos isolados quanto à sensibilidade aos fungicidas avaliados. A DE50 média foi de 0,3491 µg mL⁻¹ (variação: 0,123 a 0,477 µg mL⁻¹) e 0,1654 µg mL⁻¹ (variação: 0,016 a 0,421 µg mL⁻¹) para tiofanato-metílico e fluazinam, respectivamente (Figura 2 e 3). Para tiofanato-metílico, um isolado originário do MT apresentou uma DE50 de 0,928 µg mL⁻¹, o qual foi considerado um



"outline" e excluído do cálculo da média. A DE₅₀ média observada para tiofanato-metílico (0,3591 µg mL⁻¹) foi o dobro da DE₅₀ média observada para fluazinam (0,1654 µg mL⁻¹), demonstrando que esse princípio ativo possui uma toxicidade intrínseca à *A. ricini* duas vezes maior do que aquela observada para o princípio ativo tiofanato-metílico.

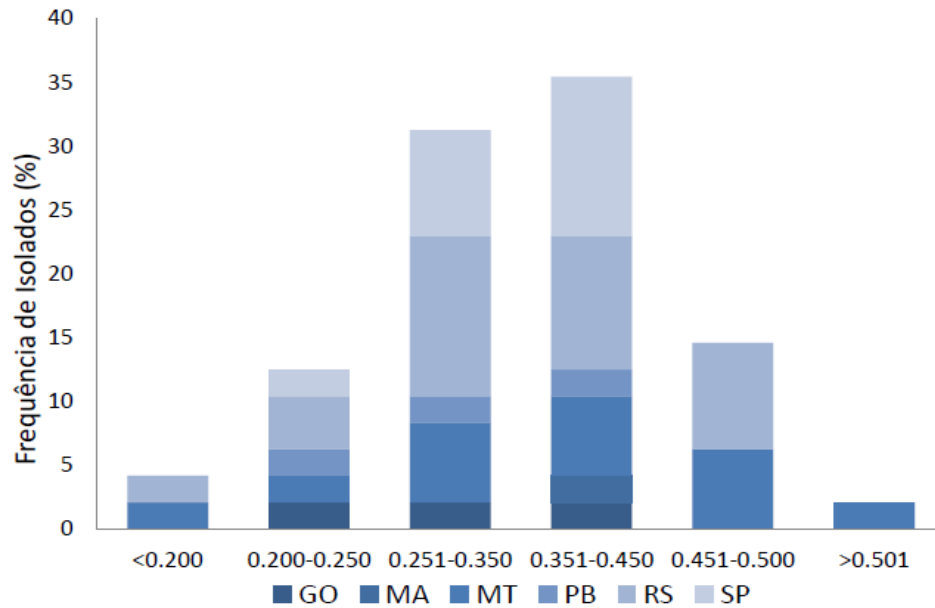


Figura 2. Frequência de distribuição da dose efetiva de tiofanato-metilico para inibir 50% do crescimento micelial (DE₅₀) de 47 isolados de *Amphobotrys ricini* oriundos de seis estados brasileiros.

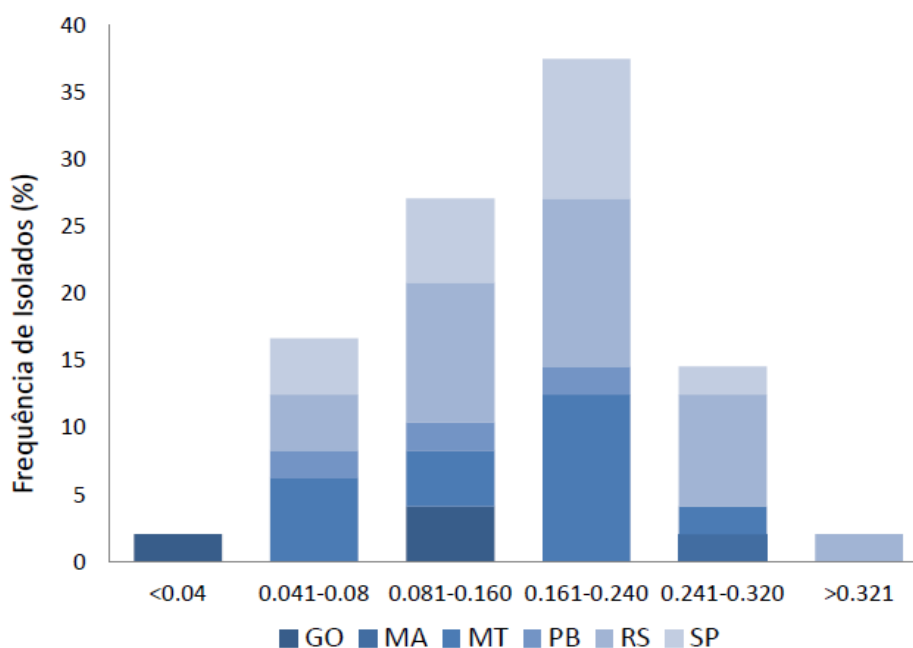


Figura 3. Frequência de distribuição da dose efetiva de fluazinam para inibir 50% do crescimento micelial (DE₅₀) de 47 isolados de *Amphobotrys ricini* oriundos de seis estados brasileiros.

Em um estudo prévio, para avaliar a DE₅₀ de diferentes fungicidas, CHAGAS et al. (2014) concluíram que *A. ricini* era altamente sensível a tiofanato-metílico, pois a DE₅₀ observada foi inferior a 1 µg mL⁻¹, contudo, tais resultados foram obtidos avaliando-se apenas um isolado do fungo. No presente trabalho, utilizando-se uma amostra de 47 isolados provenientes de seis estados brasileiros, das regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste, foi possível determinar que tiofanato-metílico apresenta uma alta toxicidade intrínseca a *A. ricini* e que a DE₅₀ média para esse princípio ativo foi de 0,3591 µg mL⁻¹, enquanto que para fluazinam a DE₅₀ média foi de 0,1654 µg mL⁻¹. Os fungicidas tiofanato-metílico e fluazinam podem vir a ser uma alternativa para o manejo do mofo cinzento da mamoneira, visto que ambos possuem alta toxicidade intrínseca à *A. ricini*. Contudo são necessários estudos em condições de campo para comprovar a eficácia dos mesmos. Adicionalmente, os valores médios da DE₅₀ observados no presente estudo poderão ser utilizados, como base, para o acompanhamento do surgimento de biótipos de *A. ricini* resistentes aos princípios ativos tiofanato-metílico e fluazinam, casos esses fungicidas venham a ser utilizados no manejo desta doença no Brasil.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

4 CONCLUSÕES

Tiofanato-metílico e fluazinam apresentam alta toxicidade intrínseca à *Amphobotrys ricini*. Fluazinam é duas vezes mais tóxico a *Amphobotrys ricini* quando comparado a tiofanato-metílico.

5 AGRADECIMENTOS

O primeiro autor agradece ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida. O segundo autor agradece ao CNPq (Proc. 472953/2009-5) e a Petrobrás (TC 0050.0064181.10.9) pelo apoio financeiro.

6 REFERÊNCIAS

BRENT, K. J. **Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed?** Global Crop Protection Federation. FRAC, Monograph N° 1. Brussels, 1995.

CHAGAS, H.A.; BASSETO, M.A.; ROSA, D.D.; TOPPA, E.V.B.; FURTADO, E.L.; ZANOTTO, M.D. Avaliação de fungicidas, óleos essenciais e agentes biológicos no controle de *Amphobotrys ricini* em mamoneira (*Ricinus communis* L.). **Summa Phytopatologica**, Botucatu, v.40, n.1, p.42- 48, 2014.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna SP, 2000.

LIMA, E. F.; ARAÚJO, A. E.; BATISTA, F. A. S. Doenças e seu controle. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Eds) **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 191-212.

SOARES, D.J. Gray mold of castor: a review. In: CUMAGUN, C. J. R. (Ed.). **Plant Pathology**. InTech Publishing: Rijeka, 2012. p. 219-240