## Eficiência in vitro e in vivo de fungicidas no controle de Colletotrichum lindemuthianum

Carlos A. Rava<sup>1,2</sup>, Aloísio Sartorato<sup>1,2</sup>, Sheila A. Botelho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF), C.P. 179, 74001-970 Goiânia, GO.

<sup>2</sup>Bolsistas do CNPq.

Aceito para publicação em: 06/01/98.

#### **RESUMO**

Rava, C.A., Sartorato, A., Botelho, S.A. Eficiência in vitro e in vivo de fungicidas no controle de Colletotrichum lindemuthianum. Summa Phytopathologica, v. 24, p.45-48, 1998.

Foram conduzidos experimentos *in vitro* e *in vivo* para se determinar a eficiência dos fungicidas benomil, fluazinam, clorotalonil e mancozeb, em seis concentrações, no controle do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* e da antracnose do feijoeiro comum. Em laboratório, foram determinados o diâmetro da colônia aos 10 dias após a transferência dos discos de micélio ao meio de cultura e a inibição da germinação de conídios após 24 horas de incubação. Em casa de vegetação, o controle da antracnose foi avaliado vinte e quatro dias após a emergência, em plantas de feijoeiro comum tratadas com os fungicidas imediatamente, três e seis dias após a inoculação. A análise de variância permitiu constatar diferenças significativas para fungicidas, concentrações e interação, em todos os parâmetros

estudados. Na determinação do crescimento micelial e da inibição da germinação de conídios, todos os tratamentos diferiram significativamente entre si. O fungicida fluazinam foi o que apresentou a maior diminuição do crescimento micelial, sendo seguido pelo benomil enquanto que, na inibição da germinação de conídios, o clorotalonil foi o fungicida mais eficiente, sendo seguido do fluazinam. No controle da doença *in vivo*, benomil foi o fungicida mais eficiente diferindo significativamente do mancozeb que, por sua vez, diferiu significativamente dos fungicidas fluazinam e clorotalonil que não apresentaram controle. Quando os fungicidas foram aplicados três e seis dias após a inoculação, não houve controle da doença.

Palavras-chave adicionais: Phaseolus vulgaris, antracnose, controle químico.

### **ABSTRACT**

Rava, C.A., Sartorato, A., Botelho, S.A. *In vitro* and *in vivo* efficiency of fungicides for the control of *Colletotrichum lindemuthianum*. *Summa Phytopathologica*, v. 24, p.45-48, 1998.

In vitro and in vivo experiments were carried out to determine the efficiency of the fungicides benomyl, fluazinam, chlorothalonil and mancozeb, in six dosages, in the control of Colletotrichum lindemuthianum and of the anthracnose of dry beans. In the laboratory, mycelial growth was determined ten days after plating mycelial discs in the culture medium and the inhibition of conidium germination was determined after 24 hours of incubation. In the greenhouse, disease control was determined 24 days after plant emergence on bean plants sprayed with fungicides immediately, three and six days after inoculation. The analysis of variance showed significative differences for

fungicides, dosages and their interactions in all parameters studied. For mycelial growth and conidium germination inhibition, all treatments differed significantly from each other. Fluazinam presented the greatest mycelial growth reduction followed by benomyl, whereas chlorotalonil was the most efficient fungicide for the conidium germination inhibition followed by fluazinam. Benomyl was the most efficient fungicide in controling the disease, differing significantly from mancozeb which differed significantly from fluazinam and chlorothalonil that did not control the disease. When the fungicides were applied three and six days after inoculation, disease control was not accomplished.

Additional keywords: Phaseolus vulgaris, anthracnose, chemical control.

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é cultivado em praticamente todas as regiões do Brasil, em diversas condições de ambiente e em diferentes sistemas de cultivo, o que exige que a cultura apresente ampla adaptação tanto para os fatores bióticos

como para os abióticos. Em todas as regiões, as doenças são um dos principais fatores que limitam tanto a produção como a produtividade da cultura.

Dentre as doenças que afetam o feijoeiro comum, a antracnose,

cujo agente causal é o fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib., é uma das mais importantes, afetando as cultivares suscetíveis estabelecidas em localidades com temperaturas moderadas a baixas e alta umidade relativa. As perdas ocasionadas pela doença podem ser da ordem de 100%, quando são semeadas sementes infectadas e as condições de ambiente são favoráveis (4). Além de diminuir o rendimento da cultura, a doença deprecia a qualidade do produto por ocasionar deformações e manchas no grão, tornando-o impróprio para o consumo.

Entre as estratégias utilizadas no controle da antracnose, a utilização da resistência genética é considerada prioritária nos programas de melhoramento desenvolvidos pela Embrapa Arroz e Feijão. Entretanto, a dificuldade de incorporar em um único genótipo resistência para os principais patótipos do agente causal desta enfermidade, justifica a necessidade da utilização do controle integrado dentro do qual, o tratamento químico desempenha um papel importante.

O objetivo do presente trabalho foi estudar a eficiência dos fungicidas benomil, fluazinam, clorotalonil e mancozeb, tanto em laboratório (*in vitro*) como em câmara de condições controladas (*in vivo*), no controle do fungo *C. lindemuthianum*.

Para a realização dos experimentos foi utilizado o isolado Cl CNF 265 (raça alfa-Brasil), devido a sua ampla distribuição nas regiões produtoras de feijão (12), o qual foi identificado como patótipo 89 de *C. lindemuthianum*. Para a obtenção das suspensões de conídios do patógeno, foram utilizados tubos contendo vagens esterilizadas e parcialmente imersas em BDA (10) as quais, após inoculação, foram incubadas de oito a dez dias, a 22°C, no escuro.

## a. Efeito dos fungicidas no diâmetro da colônia

Das suspensões de conídios obtidas, 4 ml foram adicionados a placas de Petri contendo BDA e incubadas a 22°C, por sete dias, para obtenção dos discos de micélio necessários para inocular os diferentes tratamentos.

Os tratamentos consistiram das combinações dos fungicidas benomil (Benlate 500 PM), fluazinam (Frowncide 500 SC), clorotalonil (Daconil 500 SDS) e mancozeb (Manzate 800) com as concentrações de 2500, 500, 100, 20, 4 e 0,8 ppm de i.a., além da testemunha.

No preparo do meio de cultura, a quantidade de água foi reduzida de forma que ao serem adicionadas as diluições dos fungicidas, tanto a concentração do meio quanto a dos fungicidas serem as desejadas.

Após a solidificação do meio nas placas de Petri, foram transferidos discos de micélio de 3,84 mm de diâmetro, em três pontos equidistantes e, a seguir, as placas foram incubadas, por dez dias, na temperatura de 22°C.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada medindo-se, com um paquímetro, dois diâmetros transversais de cada uma das colônias.

O experimento foi um fatorial disposto em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e, os valores médios dos diâmetros das três colônias, foram submetidos a análise de variância.

# b. Efeito dos fungicidas na inibição da germinação dos conídios

Neste experimento, utilizou-se o meio de cultura ágar-água sendo a metodologia de diluição dos fungicidas, a mesma descrita anteriormente. Os tratamentos consistiram das combinações dos fungicidas antes descritos nas concentrações de 100, 20, 4, 0,8, 0,16 e 0,032 ppm de i.a., além da testemunha.

Após a solidificação do meio de cultura em placas de Petri, foram cortados quadrados de 2,5 x 2,5 cm, os quais foram colocados sobre lâminas de microscópio previamente flambadas e, a seguir, inoculados individualmente com uma suspensão contendo 1,2 x 10<sup>6</sup> conídios/ml, utilizando-se um micro pulverizador ("air brush") durante 10 segundos.

Caixas de plástico (gerbox) foram desinfestadas com uma mistura de partes iguais de álcool 96° GL e hipoclorito de sódio comercial sendo colocadas, a seguir, em câmara de fluxo laminar sob a ação de raios ultra violeta, durante 20 minutos. Em cada caixa, foram colocadas duas folhas de papel de filtro previamente esterilizadas e umedecidas com 15 ml de água destilada estéril e as lâminas previamente inoculadas. A contagem dos conídios germinados normais, anormais e não germinados foi realizada após 24 horas de incubação a 22°C. Para cada repetição, foram contados em torno de 50 conídios.

A eficiência de controle foi obtida determinando-se a relação entre o número de conídios não germinados e germinados anormais, com o número total de conídios observados.

O experimento foi um fatorial disposto em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Para a análise de variância, os dados obtidos foram transformados em arco seno  $\sqrt{\%}$ .

### c. Efeito dos fungicidas in vivo

As plantas foram obtidas em casa de vegetação utilizando-se vasos de alumínio com capacidade para 2 kg de solo e contendo duas plantas da cultivar Rosinha G-2.

A inoculação foi realizada aos 15 dias após a emergência, pulverizando as plantas com uma suspensão contendo  $1.2 \times 10^6$  conídios.ml<sup>-1</sup>, de forma a obter a cobertura total da planta. Após a inoculação, as plantas permaneceram, por 48 horas, em câmara úmida com aproximadamente 100% de umidade relativa sendo, então, transferidas para a câmara de temperatura controlada a  $23 \pm 1^{\circ}$ C, com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias.

Os tratamentos consistiram das combinações dos quatro fungicidas e das mesmas seis concentrações utilizadas na inibição do crescimento micelial, mais a testemunha e três épocas de aplicação dos fungicidas: imediatamente após a inoculação, três e seis dias após a mesma.

Os fungicidas foram aplicados com um pulverizador costal de CO<sub>2</sub>, com uma vazão de 280 l/ha e de forma semelhante àquela realizada em condições de campo.

A avaliação dos sintomas foi realizada nove dias após a inoculação, utilizando-se uma escala de 9 graus (1 = ausência de sintomas e 9 = plantas mortas) descrita anteriormente (11).

O experimento foi um fatorial disposto em um delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições.

A análise de variância permitiu constatar diferenças significativas para fungicidas, concentrações e interação, em todos os casos estudados.

Os resultados do efeito dos quatro fungicidas e seis concentrações no diâmetro da colônia e na inibição da germinação de conídios de *C. lindemuthianum* são apresentados no Quadro 1.

Fluazinam, um fungicida protetor com recomendação específica para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, foi o que apresentou a maior inibição do crescimento micelial, diferindo

Quadro 1 - Efeito de quatro fungicidas, em seis concentrações, no diâmetro da colônia e na inibição da germinação de conídios de Colletotrichum lindemuthianum.

	FUNGICIDA				
Concentração (ppm)	Benomil	Fluazinam	Clorotalonil	Mancozeb	
	Diâ	metro da colô	nia (mm)		
2500	0,0	0,0	6,2	0,0	
500	1,8	0,6	11,8	0,6	
100	2,3	0,8	22,3	0,6	
20	2,6	1,3	27,5	33,2	
4	2,8	1,6	35,2	35,4	
0,8	7,4	2,2	39,6	37,7	
Média <sup>1</sup>	2,8 B	1,0 A	23,8 D	17,9 C	
Testemunha = 38,3 mm		C.V. (%) = 5,5			
1	Inibição d	a germinação	de conídios (%)		
100	80,7	100,0	100,0	100,0	
20	69,2	100,0	100,0	100,0	
4	68,4	100,0	100,0	95,2	
0,8	52,2	100,0	100,0	89,2	
0,16	50,2	100,0	100,0	59,0	
0,032	36,6	94,4	100,0	27,9	

<sup>1</sup>As médias assinaladas com a mesma letra para cada variável avaliada, não diferem significativamente segundo o teste de Tukey (P=0,05).

99.1 B

78,5 C

100,0 A

C.V. (%) = 2.8

59,6 D

Média1

Testemunha = 0.0%

significativamente dos demais tratamentos. Contrariamente ao obtido por outros autores (1), que constataram maior inibição do crescimento micelial quando foram utilizados fungicidas de ação sistêmica, no presente estudo, o fluazinam foi o produto que apresentou maior inibição do crescimento micelial.

Benomil, um fungicida de ação sistêmica, apresentou a segunda maior diminuição do diâmetro da colônia, diferindo significativamente dos outros três tratamentos. Resultados semelhantes com este fungicida foram obtidos por outros autores com *C. lindemuthianum* (1, 9), com *C. gloeosporioides* (6) e com *Alternaria alternata* (13).

Ao se considerar as médias dos fungicidas, tanto mancozeb como clorotalonil, foram os que menos afetaram o crescimento das colônias. Entretanto, considerando apenas as concentrações de 100 a 2500 ppm, mancozeb apresentou um comportamento semelhante ao do fluazinam sendo, inclusive, superior ao benomil. Outros autores (1) também observaram a menor eficácia do clorotalonil em diminuir o diâmetro da colônia de *C. lindemuthianum*. Este fungicida foi o único que na concentração de 2.500 ppm não inibiu completamente o crescimento das colônias.

Com relação à inibição da germinação de conídios, clorotalonil foi o fungicida mais eficiente, independentemente da concentração utilizada, sendo seguido pelo fluazinam. O fato do clorotalonil ter sido significativamente superior na inibição da germinação dos conídios e inferior na diminuição do diâmetro das colônias, quando

comparado com os demais fungicidas, indica que sua eficiência no controle da doença estaria na dependência de se obter uma cobertura completa das plantas antes que os esporos as atinjam o que, é difícil, nas condições de campo. Nas duas maiores concentrações, mancozeb também inibiu completamente a germinação dos conídios. Benomil, foi o fungicida que apresentou o menor efeito na inibição da germinação dos conídios diferindo, porém, da testemunha.

No controle da doença, quando os fungicidas foram aplicados aos três e seis dias após a inoculação do patógeno, todas as plantas apresentaram o grau máximo de enfermidade. Este fato indica que para se determinar a existência do efeito curativo dos fungicidas utilizados no controle da antracnose, os intervalos entre a inoculação e a aplicação dos mesmos deverão ser inferiores a três dias. Resultados obtidos anteriormente (2) indicam que até 50 horas após a inoculação, o fungicida benomil foi eficiente no controle da doença.

Os resultados dos tratamentos aplicados após a inoculação com *C. lindemuthianum*, são apresentados no Quadro 2.

Quadro 2 - Efeito de quatro fungicidas e seis concentrações aplicados imediatamente após a inoculação na severidade da antracnose (graus de 1 a 9) do feijoeiro comum, em condições controladas.

Concentração (ppm)	FUNGICIDA				
	Benomil	Fluazinam	Clorotalonil	Mancozeb	
2500	1,4	8,4	8,5	5,4	
500	2,5	8,6	8,8	5,6	
100	5,0	8,8	9,0	6,8	
20	6,0	9,0	9,0	7,5	
4	7,4	9,0	9,0	. 7,8	
0,8	8,6	9,0	9,0	8,6	
Média <sup>1</sup>	5,2 A	8,8 C	8,9 C	6,9 B	
Testemunha = 9,0			C.V. (%) = 4,9		

<sup>1</sup>As médias assinaladas com a mesma letra não diferem significativamente segundo o teste de Tukey (P=0,05).

O aumento na concentração dos fungicidas benomil e mancozeb provocou uma diminuição na intensidade de sintomas porém, para os fungicidas fluazinam e clorotalonil, tal diminuição não foi observada.

Benomil apresentou um nível de controle da antracnose, significativamente superior aos demais tratamentos, o que pode ser devido a sua capacidade de translocação dentro da planta. Este resultado confirma os obtidos anteriormente sobre a eficiência deste fungicida no controle da doença tanto em condições de laboratório como de campo (2, 3, 7, 8).

Embora fluazinam e clorotalonil tenham reduzido significativamente o crescimento micelial e a germinação de conídios, não apresentaram efeito algum no controle da doença; este fato pode ser explicado pela menor pressão do pulverizador costal, em relação à obtida em condições de campo, não proporcionando uma cobertura tão completa da planta. Entretanto, o clorotalonil tem sido utilizado, com êxito, no controle da doença em condições de campo (3, 7, 9).

Apesar de ser um fungicida de efeito protetor, o mancozeb diminuiu a intensidade de sintomas quando foram utilizadas as

concentrações mais elevadas. Embora estes resultados e os constantes na literatura demonstrem a eficiência deste produto no controle da doença (3, 7, 9) nem sempre este fungicida tem sido eficiente (5).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01. BALARDIN, R.S., RODRIGUES, J.C.V. Sensibilidade "in vitro" de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas sistêmicos e protetores. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.20, p.494-497, 1995.
- 02. CANTERI, M.G., DALLA PRIA, M., KIMATI, H. Efeito curativo de fungicidas aplicados em feijoeiro aos 2 e 5 dias após inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.20, p.304, 1995.
- 03. CASTRO, J.L., DUDIENAS, C., ITO, M.F., IGUE, T. Eficiência de fungicidas no controle das doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Summa Phytopathologica**, Jaguariúma, v.15, p.145-155, 1989.
- 04. CHAVES, G.M. La antracnosis. In: SCHWARTZ, H.F., GÁLVEZ, G.E., (Ed.) Problemas de produción del frijol: enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus* vulgaris. Cali: CIAT, 1980. p.37-53.
- 05. GALLI, M.A., PARADELA, A., SALVO, S., LUIZ NETO, M. Avaliação da eficiência de fungicida sistêmico no controle das doenças antracnose, mancha angular e mancha de *Alternaria* na cultura do feijoeiro. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.20, p.291, 1995.
- 06. GOES, A., KIMATI, H. Efeito de benomyl no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da queda

- prematura de frutos jovens de citrus. Summa Phytopathologica, Jaboticabal, v.20, p.46, 1994.
- 07. ISSA, E., SINIGAGLIA, C., OLIVEIRA, D.A. Controle da antracnose, Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. & Magn.) Scribner, e da mancha angular, Isariopsis griseola Sacc., do feijoeiro, Phaseolus vulgaris L. Summa Phytopathologica, Piracicaba, v.7, p.15, 1981.
- 08. OLIVEIRA, S.M.A., KIMATI, H. Controle químico e biológico de *Colletotrichum lindemuthianum* "in vitro". **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, p.216, 1992.
- 09. OLIVEIRA, S.H.F., BARROS, B.C., CASTRO, J.L. Avaliação do efeito de fungicidas no controle de doenças da parte aérea e na qualidade das sementes de feijoeiro. Summa Phytopathologica, Jaguariúna, v.18, p.178-184, 1992.
- PIO-RIBEIRO, G., CHAVES, G.M. Raças fisiológicas de Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. & Magn.) Scrib. que ocorrem em alguns municípios de Minas Gerais, Espirito Santo e Rio de Janeiro. Experientiae, Viçosa, v.19, p.95-118, 1975.
- 11. RAVA, C.A., MOLINA, J., KAUFFMANN, M., BRIONES, I. Determinación de razas fisiologicas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Nicaragua. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, p.388-391, 1993.
- 12. RAVA, C.A., PURCHIO, A.F., SARTORATO, A. Caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 167-172, 1994.
- 13. UNGARO, M.R.G., AZEVEDO, J.L. Controle de *Alternaria alternata* "in vitro" com zineb, captan e benor **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, p.89-100, 1984.

Avaliação da eficiência de fungicidas no controle da mancha preta do algodoeiro causada por *Stemphylium solani* 

Yeshwant R. Mehta<sup>1</sup>, Marco A. Oliveira<sup>2</sup>

## **RESUMO**

Mehta, Y. R., Oliveira, M.A. Avaliação da eficiência de fungicidas no controle da mancha preta do algodoeiro causada por *Stemphylium solani*. *Summa Phytopathologica*, v. 24, p. 48-50, 1998.

Avaliou-se no campo a eficiência de fungicidas no controle da mancha preta do algodoeiro cultivar Paraná-3, causada por Stemphylium solani, em dois locais. Duas aplicações de fungicidas com pulverizador de pressão constante à base de CO<sub>2</sub> foram efetuadas com intervalo de 15 dias iniciando-se a primeira aos 57 dias após a semeadura. A intensidade da doença foi

significativamente menor em parcelas com trifenil hidróxido estanho (200 g i.a./ha) e trifenil acetato estanho (200 g i.a./ha) que não diferiram estatisticamente entre si. As parcelas com difenoconazole (75 g i.a./ha), tebuconazole (250 g i.a./ha), difenoconazole (37,5 g i.a./ha) + propiconazole (37,5 g i.a./ha) e mancozeb (2000 g i.a./ha) não diferiram estatisticamente entre si e

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> IAPAR, Caixa postal 481, 86001-970 - Londrina, PR.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> COODETEC, Caixa Postal 30, 85806-970 - Cascavel, PR. Aceito para publicação em: 28/07/97.