

22. ROVERATTI, D.S., TEIXEIRA, A.R.R., MORAES, W.B.C. *Bacillus thuringiensis* - A new perspective for an induced protection to coffee leaf rust. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 126, p. 149-159, 1989.
23. SWAIN, T., HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 10, p. 63-68, 1959.
24. TIBURZY, R., MARTINS, E.M.F., MORAES, W.B.C. Visualization of *Hemileia vastatrix* structures in coffee leaves by fluorescence microscopy. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 8, p. 461-466, 1983.
25. WIRTH, S.J., WOLF, G.A. Dye-labelled substrates for the assay and detection of chitinase and lysozyme activity. **Journal of Microbiological Methods**, Elsevier, v. 12, p. 197-205, 1990.
26. YOUNG, D.H., PEGG, G.F. The action of tomato and *Verticillium albo-atrum* glycosidases on the hyphal wall of *V. albo-atrum*. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 21, p. 411-423, 1982.

## Eficiência *in vitro* e *in vivo* de fungicidas no controle de *Phaeoisariopsis griseola*

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

<sup>1</sup>Embrapa Arroz e Feijão, C.P. 179, CEP 75.375-000, Santo Antônio de Goiás, GO.

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

Aceito para publicação em: 10/08/99.

### RESUMO

Sartorato, A., Rava, C.A., Botelho, S.A. Eficiência *in vitro* e *in vivo* de fungicidas no controle de *Phaeoisariopsis griseola*. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 345-348, 1999.

Foram conduzidos experimentos, em laboratório e em casa de vegetação, para determinar o efeito dos fungicidas benomil, fluazinam, clorotalonil e mancozeb, em seis concentrações, no crescimento micelial, no peso seco da colônia e na inibição da germinação de conídios de *Phaeoisariopsis griseola* e no controle da mancha angular do feijoeiro comum. A análise de variância permitiu constatar diferenças significativas para fungicidas, concentrações e interação, em todos os casos estudados. O

fungicida benomil foi o mais eficiente na inibição do crescimento micelial e na diminuição do peso seco da colônia enquanto que, na inibição da germinação de conídios, o clorotalonil e o fluazinam foram os mais eficazes. No controle da doença, todos os fungicidas diferiram significativamente entre si, sendo o benomil, o que apresentou a maior eficácia de controle. O modelo potencial ( $y = ax^b$ ) foi o que melhor se ajustou para a obtenção do ponto de máxima curvatura permitindo determinar as concentrações mais eficientes.

Palavras-chave adicionais: *Phaseolus vulgaris*, doença fúngica, mancha angular, controle químico.

### ABSTRACT

Sartorato, A., Rava, C.A., Botelho, S.A. *In vitro* and *in vivo* efficiency of fungicides in the control of *Phaeoisariopsis griseola*. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 345-348, 1999.

Experiments were carried out under laboratory and greenhouse conditions to determine the efficiency of the fungicides benomyl, fluazinam, chlorothalonil and mancozeb, in six concentrations, in the mycelial growth, colony dry weight and the inhibition of conidial germination of *Phaeoisariopsis griseola* and in the control of angular leaf spot. The analysis of variance showed significant differences for fungicides, concentrations and their interactions in all studied cases. Benomyl was the most efficient fungicide in inhibiting the mycelial

growth and decreasing colony dry weight whereas, for the inhibition of the conidial germination, the fungicides chlorothalonil and fluazinam were the most efficient. In the disease control, all treatments differed significantly from each other and benomyl was the fungicide that showed the best efficiency. The use of the potential model ( $y = ax^b$ ) that showed the best adjustment and the determination of the point of maximum curvature allowed to establish the most efficient concentration.

Additional keywords: *Phaseolus vulgaris*, fungal disease, angular leaf spot, chemical control.

Uma das principais enfermidades fúngicas do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) na atualidade é a mancha angular, incitada pelo fungo *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr. (= *Isariopsis griseola* Sacc.). As perdas ocasionadas pela doença no rendimento podem variar de 7 a 70% (5, 9, 11). Quando a epidemia tem início precoce, SARTORATO & RAVA (11) determinaram que para cada 10% de aumento na severidade da doença, há uma redução da ordem de 7,88% no rendimento. A doença também deprecia a qualidade do produto, por ocasionar a má formação dos grãos. Entre as estratégias empregadas no controle desta doença podem ser citadas as práticas culturais, a resistência genética e o controle químico. Como a quase totalidade das cultivares recomendadas para cultivo apresenta reação intermediária ou de suscetibilidade a um ou vários patótipos do fungo, na maioria das vezes, o produtor não tem outra alternativa senão o emprego de fungicidas para controlá-la.

O objetivo do presente trabalho foi estudar a eficiência de quatro fungicidas na inibição de *P. griseola* em laboratório e no controle da mancha angular em casa de vegetação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado o isolado Ig CNF 60.4, obtido em 1984 de material infectado procedente do Estado da Paraíba.

Os tratamentos consistiram das combinações dos fungicidas benomil (Benlate 500 PM), fluazinam (Frownicide 500 SC), clorotalonil (Daconil 500 SDS) e mancozeb (Manzate 800) nas concentrações de 2500, 500, 100, 20, 4 e 0,8 ppm do i.a., além da testemunha. No preparo do meio BDA, contendo as diferentes concentrações dos fungicidas, a quantidade de água foi reduzida no mesmo volume a serem adicionadas as diluições dos produtos em água destilada. Após a solidificação do meio nas placas de Petri, foram transferidos discos de micélio de 38 mm de diâmetro, em três pontos equidistantes e, a seguir, as placas foram incubadas, na ausência de luz, a 24 °C por 16 dias. O experimento foi um fatorial disposto em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e cada parcela consistiu em uma placa de Petri com três discos de micélio. A avaliação do crescimento micelial foi realizada medindo dois diâmetros transversais de cada colônia. Após esta avaliação, as colônias foram colocadas em um beaker contendo água destilada em ebulição, filtradas a vácuo através de papel de filtro com peso seco previamente determinado e secadas a 100-105 °C por 24 horas. Para efeito da análise de variância e de regressão, os dados foram transformados para log x.

Para determinar o efeito dos fungicidas na inibição da germinação dos conídios, utilizou-se o meio de cultura ágar-água sendo a metodologia de diluição, a mesma descrita anteriormente. Os tratamentos consistiram das combinações dos mesmos fungicidas nas concentrações de 100, 20, 4, 0,8, 0,16 e 0,032 ppm do i.a., além da testemunha. Quadrados de 2,5 x 2,5 cm do meio, com os respectivos tratamentos, foram colocados sobre lâminas de microscópio previamente flambadas e a seguir inoculados individualmente, durante 10 segundos, com uma suspensão de  $2 \times 10^4$  conídios/mL, utilizando-se um micro pulverizador. As lâminas inoculadas foram colocadas em gerboxes previamente desinfectados sobre duas folhas de papel de filtro esterilizadas, umedecidas com água esterilizada e incubadas durante 24 horas a 24 °C. Para cada repetição, foram contados 50 conídios e a eficiência de controle foi determinada pela relação entre o número de

conídios não germinados e anormais com o total. O experimento foi um fatorial disposto em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e, para efeito da análise de variância, os dados foram transformados em arco seno  $\sqrt{\%}$ .

A avaliação do efeito dos fungicidas *in vivo* foi realizada em casa de vegetação, utilizando-se a cultivar Rosinha G-2. A concentração do inóculo empregada foi de  $2 \times 10^4$  conídios/mL e a inoculação realizada com DeVilbiss N° 15 acoplado a um compressor, 15 dias após o plantio, pulverizando-se a parte superior e inferior das folhas. Os tratamentos consistiram das combinações dos quatro fungicidas e das mesmas concentrações utilizadas no estudo da inibição do crescimento micelial, mais a testemunha, em três épocas de aplicação, imediatamente, dois e quatro dias após a inoculação. Os fungicidas foram aplicados apenas na face superior das folhas e, após a inoculação, as plantas permaneceram em câmara úmida por 48 horas, sendo então transferidas para a casa de vegetação. O experimento foi um fatorial disposto em um delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições e cada parcela consistiu de um vaso com duas plantas. Na avaliação dos sintomas, realizada 14 dias após a inoculação, estimou-se a percentagem de área foliar afetada pela doença, empregando a escala diagramática utilizada por SARTORATO (10). Para efeito das análises de variância e de regressão, os dados foram transformados em arco seno  $\sqrt{\%}$  e em log x, respectivamente. Para a determinação do ponto de máxima curvatura, obtido através da análise de regressão, foi utilizado o modelo exponencial expresso por  $y = ax^b$  onde, y = variável medida; x = concentração e, a e b = parâmetros da equação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância permitiu constatar diferenças significativas para fungicidas, concentrações e interação, em todos os casos estudados. Os resultados dos efeitos dos quatro fungicidas sobre o diâmetro e o peso seco da colônia indicaram que todos eles foram eficientes na inibição do crescimento micelial do patógeno (Quadro 1). O benomil apresentou maior inibição no crescimento da colônia, diferindo significativamente do fluazinam e do mancozeb, os quais também diferiram significativamente do clorotalonil. *P. griseola* é um fungo de crescimento lento e, normalmente, não apresenta um desenvolvimento radial tão vigoroso como a maioria dos fungos. Porém, no presente experimento, foi observada uma correlação altamente significativa ( $r = 0,82$ ) entre o diâmetro e o peso seco da colônia. Todos os fungicidas foram altamente eficientes na inibição da germinação dos conídios de *P. griseola*.

Os resultados apresentados no Quadro 2 indicam que o controle foi sempre superior quando os fungicidas foram aplicados imediatamente após a inoculação das plantas sugerindo que, após a penetração do patógeno no tecido foliar, torna-se mais difícil obter o controle da doença. Estudos histológicos conduzidos por CARDONA-ALVAREZ & WALKER (2) constataram que *P. griseola* penetra nas folhas do feijoeiro comum pelos estômatos e três dias após a inoculação, os cloroplastos das células adjacentes às cavidades sub-estomáticas já se encontravam afetados, o que indica a rápida penetração do patógeno no tecido do hospedeiro. Foram observadas diferenças significativas entre as médias dos quatro fungicidas utilizados,

independentemente da época de aplicação, sendo o benomil o mais eficiente. Esta maior eficiência de controle do benomil pode estar relacionada com sua capacidade de translocação dentro da planta, já que os fungicidas foram aplicados apenas na face superior das folhas, enquanto que a inoculação foi realizada em ambas as faces. Embora o fluazinam tenha apresentado alto grau de inibição do crescimento micelial e, como consequência, do peso seco da colônia, foi o fungicida menos eficiente no controle da doença nas três épocas de aplicação estudadas confirmando os resultados obtidos por RAVA & SARTORATO (7).

**Quadro 1** - Efeito de quatro fungicidas, em seis concentrações, no diâmetro da colônia, no peso seco e na inibição da germinação de conídios de *Phaeoisariopsis griseola*.

Concentração (ppm)	Fungicida				Média
	Benomil	Fluazinam	Clorotalonil	Mancozeb	
<b>Diâmetro da colônia (mm)</b>					
2500	0,06	0,20	0,30	0,16	0,18
500	0,19	0,33	1,00	0,29	0,45
100	0,26	0,52	1,43	0,26	0,62
20	0,46	1,15	2,85	0,33	1,19
4	0,42	1,43	2,89	2,57	1,83
0,8	0,88	3,41	7,67	3,98	3,98
Média	0,38 A	1,17 B	2,69 C	1,27 B	
	Testemunha = 10,46		C.V. (%) = 9,57		
<b>Peso seco da colônia (mg)</b>					
2500	1,25	1,83	2,92	1,59	1,90
500	1,00	3,08	4,42	0,84	2,33
100	1,00	3,33	2,59	2,09	2,25
20	1,08	2,50	6,67	1,42	2,92
4	1,42	3,00	7,50	9,83	5,44
0,8	2,88	7,75	15,83	11,19	9,41
Média	1,44 A	3,58 B	6,65 C	4,49 B	
	Testemunha = 20,92		C.V. (%) = 10,12		
<b>Inibição da germinação de conídios (%)</b>					
100	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
20	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
4	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
0,8	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
0,16	100,00	100,00	100,00	41,83	85,46
0,032	36,47	100,00	100,00	29,42	66,47
Média	89,41 B	100,00 C	100,00 C	78,54 A	
	Testemunha = 0		C.V. (%) = 1,03		

As médias assinaladas com a mesma letra não diferem significativamente entre si segundo o teste de Tukey (P=0,05).

Em condições de campo, o controle da mancha angular tem sido obtido com o benomil (3), clorotalonil (1, 4, 7, 8) e o mancozeb (3, 6). O fluazinam, por ser um fungicida desenvolvido especificamente para o controle do mofo branco, não tem apresentado bom controle da doença (12).

Dentre os modelos testados no estudo de regressão para as variáveis avaliadas e as concentrações utilizadas, o que melhor se

ajustou foi o exponencial ( $y = ax^b$ ) e, com este modelo, determinou-se o ponto de máxima curvatura. No Quadro 3, pode-se observar as concentrações, os coeficientes de determinação e os valores esperados das variáveis nas quais os fungicidas apresentaram maior eficiência de controle, com exceção do benomil, pulverizado imediatamente após a inoculação, pois este proporcionou eficiência de controle de 100% na maioria das concentrações utilizadas e para o benomil e o mancozeb, com referência ao peso seco da colônia, cujos coeficientes de determinação não foram significativos. Na inibição do crescimento do diâmetro da colônia e no controle da doença, o benomil foi o fungicida mais eficiente. Devido ao fato de cada fungicida ter apresentado um comportamento diferente para as variáveis analisadas e pelo uso do método de máxima curvatura, sugere-se a utilização da maior concentração encontrada individualmente, ou seja, 15,75; 3,19; 6,05 e 4,18 ppm para o benomil, fluazinam, clorotalonil e mancozeb, respectivamente.

**Quadro 2** - Efeito de quatro fungicidas, em seis concentrações, aplicados imediatamente, dois e quatro dias após a inoculação, na severidade (porcentagem de área foliar afetada<sup>1</sup>) da mancha angular do feijoeiro comum.

Concentração (ppm)	Fungicida				Média
	Benomil	Fluazinam	Clorotalonil	Mancozeb	
<b>Imediatamente após inoculação</b>					
2500	0,00 <sup>1</sup>	13,13	0,38	4,50	4,50
500	0,00	15,00	0,38	6,88	5,56
100	0,00	18,75	1,63	6,75	6,78
20	0,00	17,50	6,50	8,75	8,19
4	0,00	24,38	14,38	10,00	12,19
0,8	0,38	22,50	16,88	11,88	12,91
Média	0,06 A	18,54 D	6,69 B	8,13 C	
	Testemunha = 69,38		C.V. (%) = 21,68		
<b>Dois dias após inoculação</b>					
2500	0,00 <sup>1</sup>	40,63	28,13	28,75	24,38
500	2,13	42,50	27,50	31,25	25,84
100	7,63	42,50	29,37	31,88	27,84
20	16,25	45,00	33,13	31,88	31,56
4	21,25	49,38	30,63	38,13	34,84
0,8	38,13	60,63	33,75	68,13	50,16
Média	14,23 A	46,77 D	30,42 B	38,33 C	
	Testemunha = 70,00		C.V. (%) = 10,48		
<b>Quatro dias após inoculação</b>					
2500	0,13	38,75	30,63	32,50	25,50
500	3,75	45,63	28,75	36,25	28,59
100	15,63	43,75	31,25	36,25	31,72
20	26,25	47,50	35,00	36,25	36,25
4	39,50	54,38	37,50	38,75	42,53
0,8	44,38	62,38	39,38	69,38	53,88
Média	21,60 A	48,73 D	33,75 B	41,56 C	
	Testemunha = 65,00		C.V. (%) = 9,56		

As médias assinaladas com a mesma letra não diferem significativamente entre si segundo o teste de Tukey (P=0,05).

**Quadro 3** - Pontos de máxima curvatura, coeficientes de determinação e estimativas da variável no ponto de máxima curvatura obtidos com quatro fungicidas em seis concentrações no diâmetro e peso seco da colônia de *Phaeoisariopsis griseola* e na severidade da mancha angular, quando os fungicidas foram aplicados imediatamente, dois e quatro dias após a inoculação das plantas de feijoeiro da cultivar Rosinha G-2.

Variável <sup>1</sup>		Fungicidas			
		Benomil	Fluazinam	Clorotalonil	Mancozeb
Diâmetro da colônia	x	0,45	1,23	2,46	1,20
	R <sup>2</sup>	0,93**	0,98**	0,96**	0,71*
	$\hat{y}$	1,32	3,13	5,90	2,79
Peso seco da colônia	x	—	0,85	2,35	—
	R <sup>2</sup>	0,54	0,68*	0,77*	0,57
	$\hat{y}$	—	5,84	10,71	—
Aplicação imediatamente após	x	—	1,68	6,05	1,42
	R <sup>2</sup>	—	0,72*	0,85**	0,90**
	$\hat{y}$	—	23,29	9,66	11,93
Aplicação dois dias após	x	9,02	2,63	0,92	3,48
	R <sup>2</sup>	0,88*	0,85**	0,82*	0,75*
	$\hat{y}$	18,98	59,06	33,93	48,11
Aplicação quatro dias após	x	15,75	3,19	1,54	4,18
	R <sup>2</sup>	0,74*	0,87**	0,80*	0,71*
	$\hat{y}$	20,50	56,61	38,70	49,83

<sup>1</sup>x = Ponto de máxima curvatura (concentração em ppm); R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação;  $\hat{y}$  = estimativa da variável no ponto de máxima curvatura.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. BARROS, A.C., PATRÍCIO, F.R.A., CASTRO, J.L., LAGO, A.A. Avaliação de fungicidas no controle de mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) da cultura do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 24, p. 65-66, 1998.
02. CARDONA-ALVAREZ, C., WALKER, J.C. Angular leaf spot of bean. **Phytopathology**, St. Paul, v. 46, p.610-615, 1956.
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**, Campinas, v. 15, p. 145-155, 1989.
04. ITO, M.G., CASTRO, J.L., BERGAMIN FILHO, A. Efeito do inseticida Cartap sobre a mancha angular do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 288, 1994.
05. MORA BRENES, B., CHAVES, G.M., ZAMBOLIM, L. Estimativas de perdas no rendimento do feijoeiro comum (*P. vulgaris* L.) causadas pela mancha angular (*Isariopsis griseola* Sacc.). **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.8, p. 599, 1983.
06. 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.
07. RAVA, C.A., SARTORATO, A. Eficiência de fungicidas aplicados pelo método convencional no controle da mancha angular (*Isariopsis griseola* Sacc.) do feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.20, p. 51, 1994.
08. RAVA, C.A., SARTORATO, A. Controle da mancha angular do feijoeiro comum com aplicação de fungicidas pelo método convencional. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 21, p. 55, 1995.
09. RAVA, C.A., SARTORATO, A., CARVALHO, J.R.P. Yield losses in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) caused by angular leaf spot (*Isariopsis griseola* Sacc.). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, New York, v.28, p. 5-6, 1985.
10. SARTORATO, A. **Resistência vertical e horizontal do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Isariopsis griseola* Sacc.** Piracicaba, 1989. 131p. Tese de Doutorado em Agronomia – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
11. SARTORATO, A., RAVA, C.A. Influência da cultivar e do número de inoculações na severidade da mancha angular (*Isariopsis griseola*) e nas perdas na produção do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, p. 247-251, 1992.
12. SARTORATO, A., RAVA, C.A. Controle da mancha angular do feijoeiro comum pelo método de aplicação convencional de fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 70-72, 1999.