



COMPORTAMENTO MICELIAL DE *Alternaria* sp. SOB DOSES DE TIOFANATO METÍLICO

BEHAVIOR MYCELIAL *Alternaria* sp. SOB DOSES OF METHYL THIOPHANATE

OLIVEIRA¹, Reginaldo; RODRIGUES¹, Jessica Marciella de Almeida; SANTOS JUNIOR¹, Antonio Calado; RODRIGUES², Cleverson; DAVID³, Grace Queiroz; PERES³, Walmor Moya

¹Bolsistas PROBIC/ Unemat e Acadêmicos do curso de Agronomia, UNEMAT, Alta Floresta, e-mail: reges23@outlook.com

²Mestrando no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos – UNEMAT;

³Professores do Departamento de Ciências Biológicas e Agronomia – UNEMAT, *Campus* Alta Floresta – MT

Resumo - *Alternaria* sp. é um patógeno de interesse agrônômico, na qual desencadeia sérios problemas para o setor agrícola. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento micelial de *Alternaria* sp. sob a aplicação de tiofanato metílico. Isolou-se o patógeno de sementes de alface, e em delineamento inteiramente casualizado avaliou-se a sensibilidade deste ao tiofanato metílico. Foram utilizadas três dosagens sendo a recomendada, o dobro e a média da recomendação além da testemunha (água). Em placas com meio ágar V8 incubou-se o fungo por 48h e em seguida efetuou-se a aspersão das soluções de fungicida (1,5mL/placa), essas foram mantidas em BOD a 25°C, e fotoperíodo de 12h. Após sete dias avaliou-se o crescimento micelial, IVCM, PIC e concentração de esporos/mL. Os dados de desenvolvimento micelial foram submetidos à análise de regressão a 5% de probabilidade. Não houve diferença significativa entre as dosagens para as variáveis analisadas, sendo todas superiores a testemunha.

Palavras chave - Controle químico; IVCM; Fungicida.

Abstract - *Alternaria* sp. is a pathogen of agronomic interest, which triggers serious problems for the agricultural sector. The aim of this study was to evaluate the mycelial growth of *Alternaria* sp. Under application of thiophanate-methyl. Isolated the pathogen of lettuce seeds, and randomized design evaluated the sensitivity of thiophanate methyl. Used three doses being recommended, twice the average of the recommendation and the control (water). In V8 agar medium were incubated for 48 hours the fungus and then made up to solutions of fungicide spraying (1,5 ml / plate) were maintained in this chamber at 25 ° C and a photoperiod of 12h. After seven days we evaluated mycelial growth, IVCM, PIC and concentration of spores / mL. Data on mycelial growth were subjected to regression analysis, a 5% probability. There was no significant difference between the treatments for the variables analyzed, and all above witness.

Keywords - Chemical control; IVCM; Fungicide.

INTRODUÇÃO

A agricultura brasileira enfrenta sérios problemas, especialmente de ordem fitossanitária, nas fases de produção e pós-colheita, que limitam a sua inserção no mercado internacional, conforme Benato (2002). A vida útil dos produtos hortícolas se vê limitada principalmente pelo aparecimento de alterações fisiológicas e pelo



ataque de patógenos, que depreciam o valor comercial dos produtos (ZACARIAS, 1993).

Vários métodos de controle se aplicam de forma única ou integrada, no controle de doenças de frutas e grãos, que, geralmente, são afetadas por mais de um patógeno, dentre os principais agentes causadores de doença destaca-se o gênero *Alternaria* que apresenta um grande número de espécies, com mais de 40 delas relatadas como patógenos de plantas (ROTEM, 1994).

O gênero *Alternaria* é um dos principais grupos causadores de infecção quiescente em frutos e hortaliças além de outras espécies de plantas á vários relatos de *Alternaria* sp. infectando culturas como seringueira, macieira, pepino e outras (KIMATI et al., 1997).

Segundo Leite (2002), as condições ótimas para o desenvolvimento de *Alternaria* são, alta umidade relativa e uma faixa de temperatura variando de 25 a 30°C, sendo que o crescimento micelial do fungo é inibido em temperaturas igual ou inferior a 5°C, e a sua amplitude de crescimento varia entre 5,5 e 32,9°C. Já no que se refere à germinação dos esporos a faixa de temperatura varia de 7,9 a 40°.

Os fungos do gênero *Alternaria* sobrevivem entre um cultivo e outro em restos de cultura infectados, e hospedeiros intermediários, podendo sobreviver ainda em equipamentos agrícolas, estacas e caixas usadas ou mesmo nas sementes. Além destas formas de sobrevivência, existe a possibilidade do patógeno permanecer viável no solo na forma de micélio, esporos ou clamidósporos. Os conídios de *Alternaria* sp. são altamente resistentes a baixo nível de umidade, podendo permanecer viáveis por até um ano nestas condições.

O sintoma típico da doença são manchas escuras, quase negras, nas folhas pequenas manchas circulares, cujo centro seca gradualmente e torna-se negro. A produção de esporos acrescenta à aparência negra as manchas, com frequência se observa a formação de zonas concêntricas no interior das lesões.

O controle mais indicado é com fungicidas sistêmicos, em função da sua capacidade de penetrar e translocar dentro da planta, são capazes de agir curativamente. Na prática, entretanto, observa-se que a maior parte do produto fica externamente agindo como protetor, além de envolver outro importante princípio – imunização (BERGAMIN FILHO, 1995).

É de fundamental importância à inclusão de vários princípios ativos no programa de controle uma vez que o uso contínuo de um mesmo princípio ativo possibilita a seleção de estirpes resistentes de patógenos (PRUSKY et al., 1985), além do uso indiscriminado que pode acarretar sérios danos a microbiota do solo como um todo e inferir custos de produção quando usado em excesso. Assim, este trabalho objetivou avaliar a eficiência de dosagens do fungicida tiofanato metílico sob o desenvolvimento micelial de *Alternaria* sp.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UNEMAT, em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições cada. O patógeno foi obtido de olerícolas produzidas na região, sendo esse mantido e repicado em meio ágar V₈, até obtenção de cultura monospórica.



O experimento consistiu na montagem, em cabine de fluxo laminar, de 64 placas de Petri contendo meio ágar V₈ após a solidificação do meio foram depositados ao centro de cada placa um disco de 10 mm do micélio do patógeno com sete dias, em seguida essas placas foram vedadas e mantidas por 48 horas em câmara de germinação tipo BOD a 25°C e luz alterna (12h).

Passado tal período as placas já com o fungo inoculado e em desenvolvimento, foram tratadas com a aplicação do fungicida Cercobim® cujo princípio ativo é o tiofanato metílico, utilizaram-se quatro dosagens, sendo: a recomendada pelo produto para olerícolas (70g p.c./100L), a metade da recomendação (35g p.c./100L), o dobro da recomendação (140g p.c./100L) e a dose zero (testemunha), configurando os quatro tratamentos.

A aplicação se deu por meio de aspersão com auxílio de um borrifador manual, na qual cerca de 1,5mL da solução era depositada de maneira uniforme sobre o micélio em desenvolvimento, em seguida foram vedadas e mantidas em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12h até o momento em que um dos tratamentos completassem a total colonização do meio.

As avaliações foram diárias a partir das primeiras 48h de incubação, avaliou-se o desenvolvimento micelial através da média do crescimento radial das colônias, o qual foi avaliado em dois eixos ortogonais com auxílio de régua milimetrada. As avaliações subsidiaram dados para verificar o crescimento micelial, o índice de velocidade de crescimento (IVCM) e a porcentagem de inibição do crescimento micelial dados pelas fórmulas de Oliveira (1991) e Abbott (1925).

$$IVCM = \frac{\sum (D - D_a)}{N}$$

$$PIC = \left[\frac{(\varnothing \text{ da testemunha} - \varnothing \text{ do tratamento})}{\varnothing \text{ da testemunha}} \right] \times 100$$

Onde;

D = diâmetro médio atual da colônia;

D_a = diâmetro médio da colônia do dia anterior;

N = número de dias após a inoculação.

Após o crescimento total do micélio nas placas avaliou-se a esporulação, sendo utilizada 5 placas por tratamento, nas quais foram adicionado 10mL de água destilada esterilizada sobre a superfície da colônia, essa friccionada com o auxílio da alça de Drigalski. Da suspensão composta obtida, uma alíquota de 100µl foi depositada em câmara de Neubauer, efetuando-se a contagem de conídios, cuja concentração foi determinada pelo software CALIBRA versão 2011.

Na análise estatística os dados foram submetidos à análise de regressão ao nível de 5% de probabilidade por meio do programa SISVAR® (FERREIRA, 2008).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa entre as dosagens de tiofanato metílico no crescimento micelial de *Alternaria* sp. quando submetido a testes *in vitro*, demonstrando a eficiência de ação da metade da dose recomendada (figura 01), fato positivo pois o uso de uma dose inferior, com eficiência estatisticamente semelhante, oferece menos riscos e danos ao ambiente, efeito similar foi encontrado por Reuvani (2002), em testes *in vitro*, quando estudou o efeito de difeconazole no crescimento micelial de *A. alternata*. Tais dados também corroboram com Lacom-

Vasilescu (2004), que encontrou redução do crescimento micelial de *A. alternata* em dosagens inferiores a 1mg/L quando testou três fungicidas (prochloraz, flutriafole e difeconazole).

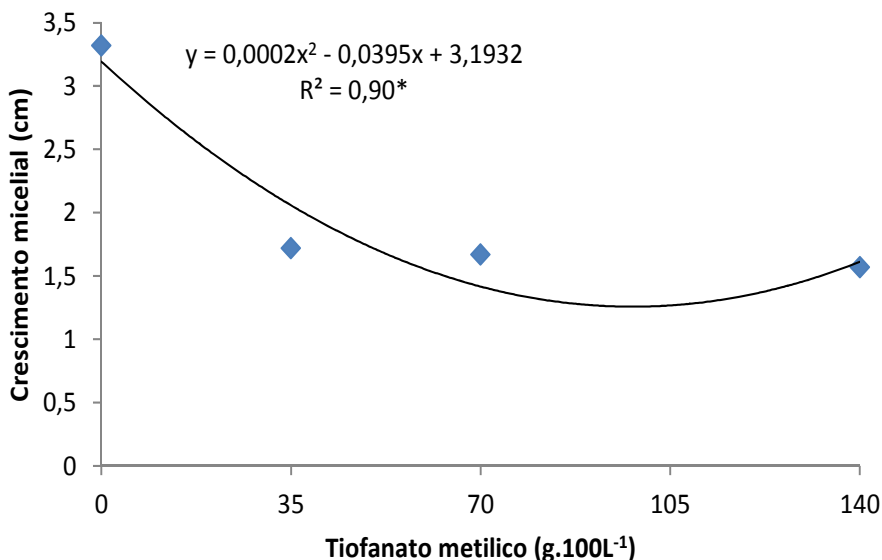


Figura 01 - Crescimento médio micelial de *Alternaria* sp. sob aplicação de doses de tiofanato metílico (g.100L⁻¹). Alta Floresta – MT, 2013.

Observa-se que o crescimento micelial para as dosagens diferiram significativamente quando comparados com a testemunha, apresentando os seguintes valores relacionados às suas respectivas dosagens: 140-1,57; 70-1,67; 35-1,72 e 0-3,72 cm.

Para a porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC), observa-se dentro das dosagens avaliadas um comportamento crescente a medida em que se eleva, observando que a dose 0 (testemunha) não há inibição, seguida da metade da recomendação com 47,63%, a recomendada com 49,8% e o dobro da dose com 52,29% de inibição quando comparadas com a testemunha.

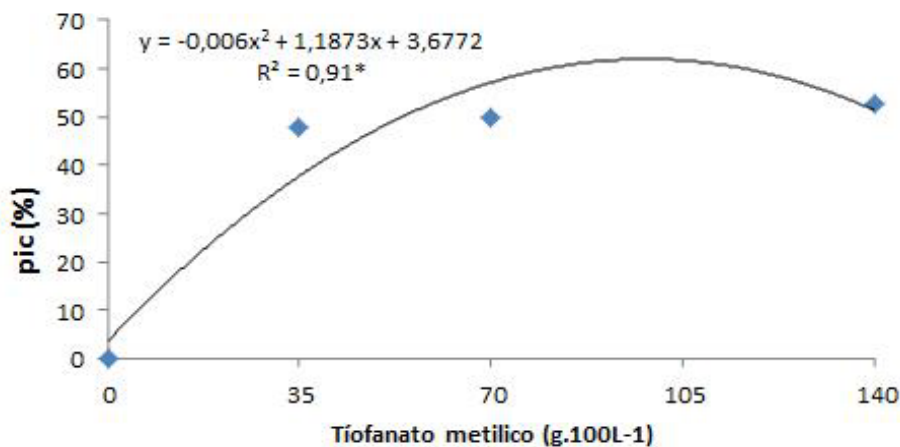


Figura 02 - Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *Alternaria* sp. sob aplicação de doses de tiofanato metílico (g.100L⁻¹). Alta Floresta – MT, 2013.

Para o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), de *Alternaria* sp., aos seis dias de incubação verifica-se que o fungo obteve maior crescimento na testemunha da ordem de 0,50 quando comparado com dobro da recomendação que foi 0,20; seguidos da dose recomendada com 0,22 e metade da dose recomendada 0,24. Tais valores estão estreitamente ligados as taxas de inibição e crescimento do fungo quando, confirmando a real eficiência de subdoses, o que infere na velocidade de colonização do tecido ou meio, tornando-o suscetível a ação do produto.

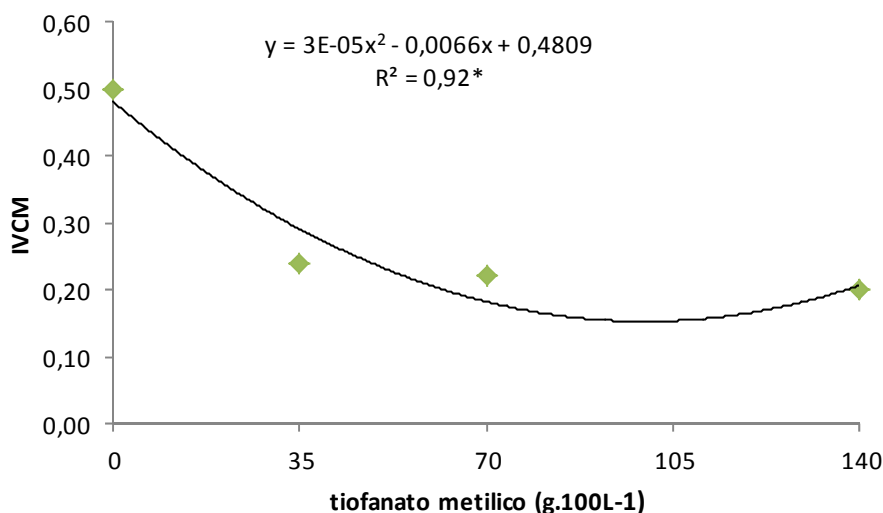


Figura 03 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Alternaria* sp. sob aplicação de doses de tiofanato metílico (g.100L⁻¹). Alta Floresta – MT, 2013.

Com relação à esporulação todos os tratamentos diferiram significativamente da testemunha. Reuvani (2002) também relata a sensibilidade de *A. alternata* ao fungicida azoxystrobin em frutos de maçã.

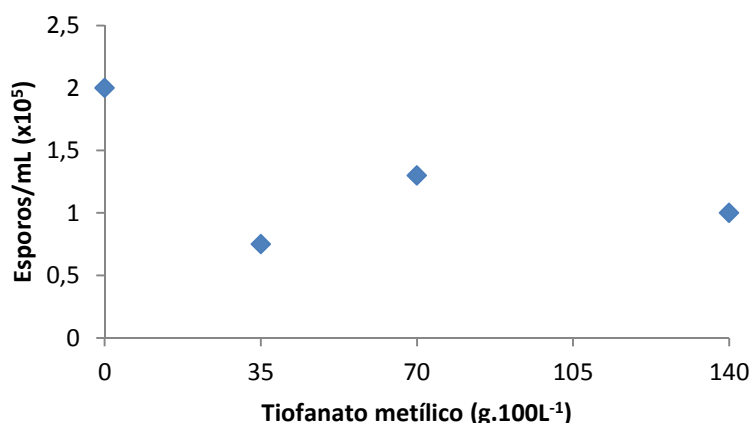


Figura 04 - Concentração de esporos de *Alternaria* sp. Sob aplicação de doses de tiofanato metílico (g.100L⁻¹). Alta Floresta – MT, 2013.

CONCLUSÕES



Não houve diferença estatística entre as dosagens utilizadas, sendo todas fungitóxicas ao fitopatógeno *Alternaria* sp, agindo tanto na miceliação quanto na produção de esporos.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de amparo á pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) e a Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) pelas bolsas concedidas aos autores.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 18, p. 265-267, 1925.
- BENATO, E.A. **Indução de resistência no controle de doenças pós-colheita: frutas e hortaliças**. Resumo, 1º Reunião Brasileira sobre Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. Piracicaba, SP. 2002. pp. 29- 31.
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. 774p.
- FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.
- IACOMI-VASILESCU, B., AVENOT, H., BATAILLESIMONEAU, N., LAURENT, E.; GUÉNARD, M. & Simoneau, P. **In vitro fungicide sensitivity of Alternaria species pathogenic to crucifers and identification of Alternaria brassicicola field isolates highly resistant to both dicarboximides and phenylpyrroles**. Crop Protection 23:481–488.2004.
- KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia**. v. 2. Piracicaba: Ceres, 1997. 774p.
- LEITE, R.M.V.B.C. & AMORIM, L. **Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo da mancha de Alternaria em girassol**. Fitopatologia Brasileira 27:193-200.2002.
- OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativa* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.). 1991. 111fl. **Dissertação** (Mestrado em Fitossanidade) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG: UFLA, 1991.
- PRUSKY, D., BASAK, M. & BEN-ARIE, R. **Development, persistente, survival and strategies for control of thiabendazole-resistant strains of Penicillium expansum pome fruits**. Phytopathology 75:877-882.1985.
- REUVENI, M. & Sheglov, D. **Effects of azoxystrobin, difenoconazole, polyoxin B (polar) and trifloxystrobin on germination and growth of Alternaria alternata and decay in red delicious apple fruit**. Crop Protection 21:951- 955.2002.
- ROTEM, J. **The genus Alternaria: biology, epidemiology and pathogenicity**. St. Paul. APS Press, 1994.
- ZACARÍAS, L. Etileno. In: Azcón-Bieto, J.& Talón, M. (Ed.). **Fisiología e bioquímica vegetal**. [S.l.]: McGraw- Interamericana, 1993. pp. 343-356.