

SENSIBILIDADE DE *Colletotrichum acutatum*, AGENTE ETIOLÓGICO DA ANTRACNOSE DA PIMENTA (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*) A MANCOZEBE, TEBUCONAZOL E ASM

SANTIAGO, Michele Freitas¹

¹Aluna de graduação de Agronomia FAEM/UFPEL; Email: miccafs@hotmail.com

UENO, Bernardo²

²Embrapa Clima Temperado, C.P. 403, 96001-970, Pelotas-RS. Email: berueno@cpact.embrapa.br

1 INTRODUÇÃO

A antracnose, causada pelo fungo do gênero *Colletotrichum*, é considerada a mais importante doença na cultura da pimenta, provocando sérios prejuízos econômicos, sendo que o maior dano ocorre em frutos, principalmente em condições de temperatura e umidade elevadas. Nos últimos anos, *C. acutatum* é a espécie do fungo predominante em lavouras de pimenta vermelha no Rio Grande do Sul (Silva, 2008).

O controle da antracnose em diferentes culturas se baseia na pulverização de fungicidas. Segundo Chung et al. (2006), para controlar eficazmente a antracnose, é necessário determinar a sensibilidade dos isolados de espécies de *Colletotrichum* que causam a doença aos fungicidas testados. Vários estudos demonstram que o uso intensivo destes produtos tem favorecido o surgimento de populações resistentes do fungo aos fungicidas, como foi mostrado nos trabalhos sobre o uso intensivo de benomil no controle da antracnose em mangueira e cereais (Dodd et al., 1991).

Devido à importância de se conhecer a sensibilidade de *C. acutatum* a fungicidas, o presente trabalho teve como objetivo obter a EC₅₀ (concentração efetiva capaz de inibir 50% do crescimento micelial do fungo) de *C. acutatum* de pimenta vermelha para mancozebe, tebuconazol e ASM.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Foram testados três fungicidas: um de contato: mancozebe (nome comercial (n.c.): Dithane NT; grupo químico (g.q.): ditiocarbamato; concentração de ingrediente ativo (c.i.a.): 80%); um sistêmico: tebuconazol (n.c.: Folicur 200 EC; g.q.: triazol; c.i.a.: 20%) e um indutor de resistência: acibenzolar-S-metílico - ASM (n. c.: Bion 500WG; g. q.: benzotiadiazol; c.i.a.: 50%).

Para este estudo foi utilizado o isolado de *C. acutatum* ECT - 5, obtido de pimenta vermelha, preservado em tubos de ensaio com meio de BDA, armazenado em câmara-fria (5°C) e mantidas por repicagens periódicas.

No primeiro ensaio, para adequar as concentrações dos produtos na determinação de EC₅₀, foram utilizadas placas de Petri descartável (poliestireno) com capacidade de 40 mL, preenchidas com contendo 20 mL de meio BDA, com adição das seguintes concentrações de fungicidas: 10, 5, 1 e 0,1 ppm, após a autoclavagem e resfriamento para 60°C. Na testemunha não houve adição de fungicida. Cada tratamento teve quatro repetições.

No segundo ensaio, para determinação de de EC₅₀, foram utilizadas placas de Petri. As concentrações dos fungicidas foram: mancozebe (20, 16, 12, 8, 4 e 2

ppm; tebuconazol (0,05, 0,025, 0,0125, 0,00625, 0,0125, 0,00625, 0,003125, 0,0015625, 0,000781, 0,000390 e 0,000195 ppm; ASM (10, 5, 2,5, 1, 0,5 e 0,1 ppm). Na testemunha não houve adição de fungicida. Cada tratamento teve quatro repetições.

Com o auxílio de um furador de rolha de 5 mm de diâmetro, um disco de micélio do isolado fungo ECT 5, previamente cultivado em BDA, foi retirado e colocado no centro de cada placa de Petri, contendo o meio de cultura BDA + fungicida. As placas foram incubadas por sete dias a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas.

Decorrido o período de incubação, com o auxílio de uma régua, fez-se as medições, em mm, da colônia do fungo em sentidos ortogonais (x e y), avaliando-se o seu crescimento micelial.

Para os cálculos da determinação do EC_{50} foi seguida o método descrito por Yoshimura et al. (2004). Os resultados foram dados em porcentagem de inibição do crescimento micelial, em relação à testemunha, que consistiu na seguinte fórmula: $I = 100 - (100 * F/T)$, onde: I – porcentagem de inibição; F – diâmetro médio das colônias do fungo na presença de fungicida e T – diâmetro médio da colônia testemunha. As concentrações dos fungicidas foram transformadas em logaritmo (\log_{10}). Para o cálculo da EC_{50} foi feita a regressão linear dos valores de I sobre o \log_{10} da concentração. Foi usado para os cálculos do ensaio, o programa Microsoft Office Excel.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No primeiro ensaio (Tabela 1), houve inibição completa do crescimento micelial de *C. acutatum* em todas as concentrações testadas para o fungicida sistêmico tebuconazol. O ASM, apesar de ser indutor de resistência, inibiu completamente o fungo com 10 ppm, enquanto mancozebe não atingiu 100% de inibição nas doses testadas. Resultados semelhantes foram encontrados por Tavares et al. (2005), onde o fungo *C. gloeosporioides*, obtido de mamoeiro, mostrou maior sensibilidade aos fungicidas do grupo dos triazóis como propiconazol e tebuconazol.

A inibição total de *C. acutatum* com ASM a 10 ppm não era esperada, pois ASM é uma indutor de resistência que não tem efeito fungitóxico (Oostendorp et al., 2001). Já, Silva et al. (2006) mostraram que o ASM apresenta alguma atividade fungitóxica para *C. acutatum* isolado de pimenta vermelha, nas doses testadas que foram de 2,5 e 25 ppm, obtendo inibição de crescimento micelial que variou de 21 a 43%. Desta forma o isolado ECT 5 de *C. acutatum* usado no ensaio seja, provavelmente mais sensível ao ASM.

No segundo ensaio (Tabela 2), realizado para a determinação de EC_{50} , houve inibição completa de *C. acutatum* para mancozebe a partir da dose de 20 ppm, tebuconazole na dose de 0,0125 ppm e ASM a 10 ppm. Os coeficientes de determinação R^2 foram de 0,923, 0,938 e 0,808 para mancozebe, tebuconazol e ASM, respectivamente (Figura 1), valores estes que são favoráveis para a obtenção de EC_{50} , mostrando que o intervalo das concentrações de fungicidas testados está adequado para o cálculo de EC_{50} .

Os valores de EC_{50} foram 3,453, 0,00266 e 2,586 ppm para mancozebe, tebuconazol e ASM, respectivamente (Figura 1). Esses resultados demonstram a alta fungitoxicidade de tebuconazol a *C. acutatum* em relação aos demais; e, que o ASM foi mais fungitóxico que o mancozebe para o isolado ECT 5 testado no presente ensaio.

TABELA 1: Efeito de diferentes produtos em quatro concentrações, sobre *C. acutatum* isolado ECT 5, obtido de pimenta vermelha, avaliado pela a inibição de crescimento micelial (%). Ensaio 1.

Produtos	Concentração em ppm			
	0,1*	1	5	10
mancozebe	0	12,03	61,16	73,39
tebuconazol	100	100	100	100
ASM	0	26,29	60,85	100

* Porcentagem de inibição cultural, calculada através da fórmula $I (\%) = 100 - (100 \cdot R / T)$.

TABELA 2: Diferentes concentrações de fungicidas sobre *C. acutatum* isolado ECT 5, obtido de pimenta vermelha, avaliado pela a inibição de crescimento micelial (%). Ensaio 2.

Produto	Concentração em ppm					
	2	4	8	12	16	20
mancozebe	36,96*	54,43	73,39	74,00	78,28	100

Produto	Concentração em ppm									
	$1,9 \times 10^{-4}$	$3,9 \times 10^{-4}$	$7,8 \times 10^{-4}$	$1,6 \times 10^{-3}$	$3,1 \times 10^{-3}$	$6,25 \times 10^{-3}$	$1,2 \times 10^{-2}$	2×10^2	5×10^1	
tebuconazol	0	1,44	10,11	31,77	52,35	64,26	100	100	100	

Produto	Concentração em ppm					
	0,1	0,5	1	2,5	5	10
ASM	0	7,22	26,29	27,80	60,85	100

* Porcentagem de inibição cultural, calculada através da fórmula $I (\%) = 100 - (100 \cdot R / T)$.

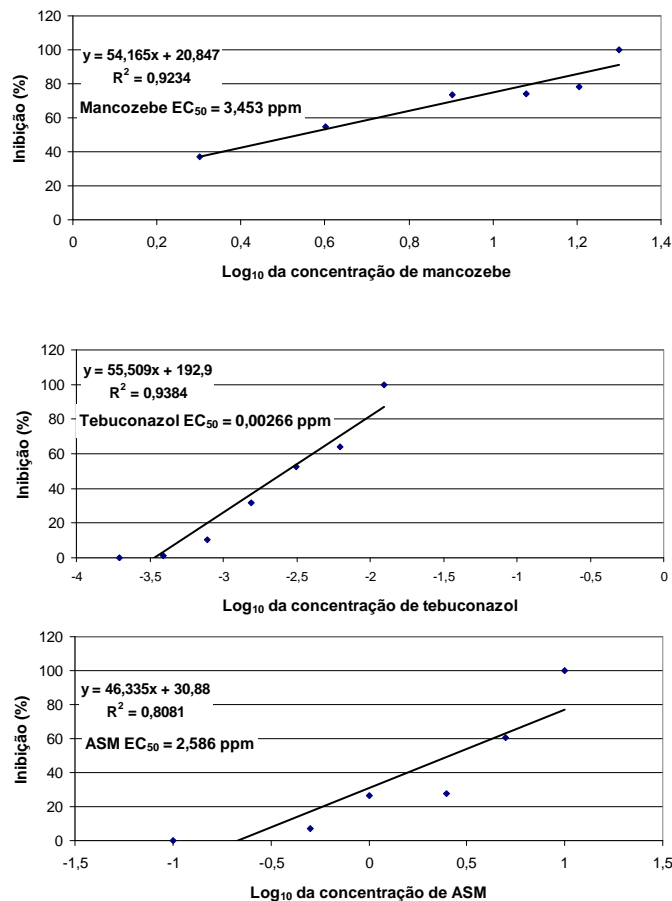


Figura 1: Curva de regressão para determinação de EC₅₀ de mancozebe, tebuconazol e ASM para inibição de crescimento micelial de *C. acutatum* isolado ECT 5, oriundo de pimenta vermelha.

Baseado nos valores de EC₅₀ obtidos no presente trabalho e comparando esses dados com a dose recomendada para aplicação em lavouras de mancozebe (2400 ppm), tebuconazol (200 ppm) e ASM (25 ppm) (MAPA, 2009), pode se calcular a relação dose comercial/EC₅₀ dos fungicidas testados no ensaio. Esse cálculo resulta numa relação tebuconazol:mancozebe: ASM que é 1:108:7764,

mostrando uma relação bastante favorável a eficiência teórica de fungitoxicidade do tebuconazol quando usado para o controle de antracnose em lavouras de pimenta.

4 CONCLUSÕES

A alta fungitoxicidade de tebuconazol para *C. acutatum* foi confirmada no presente ensaio, chegando a ser em torno de 1000 vezes mais eficiente na inibição potente em relação a mancozebe e ASM. Em relação a EC₅₀ para o isolado ETC 5 de *C. acutatum*, o indutor de resistência ASM foi tão fungitóxico quanto o fungicida protetor mancozebe. No entanto, mais ensaios são necessários para confirmar se esse efeito ocorre com frequência em isolados de *C. acutatum*.

5 REFERÊNCIAS

- CHUNG, W. H.; ISHII, H.; NISHIMURA, K.; FUKAYA, M.; YANO, K.; KAJITANI, Y. Fungicide sensitivity and phylogenetic relationship of anthracnose fungi isolated from various fruit crops in Japan. **Plant Disease**, v. 90, n. 4, p. 506-512, 2006.
- DODD, E. J.C.; MATCHAM, J.; JEFREIES, P.; JEGER, M. J. The effect of climatic factors on *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of mango anthracnose, in the Phillipines. **Plant Pathology**, v. 40, n. 4, p. 568-575, 1991.
- MAPA. Sistema de Informação sobre Agrotóxicos – **AGROFIT**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 29 out 2009.
- OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRICH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, n. 1, p. 19–28, 2001.
- SILVA, L. P. Caracterização morfológica, fisiológica, molecular e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. em diferentes hospedeiros. 2008. 149 f. **Tese (Doutorado em Fitossanidade)** – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- SILVA, L. P.; UENO, B.; MOURA, A. B. Eficiência de fungicidas in vitro e in vivo no controle da antracnose da pimenta vermelha (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*). In: **Encontro de Iniciação Científica e Pós-Graduação da Embrapa Clima Temperado**, 2006, Pelotas. Embrapa Clima Temperado, v. 168, p. 143-146, 2006. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 168)
- TAVARES, G. M.; SOUZA P. E. Efeito de fungicidas no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 1, p. 52-59, 2005.
- YOSHIMURA, M. A.; LUO, Y.; MA, Z.; MICHAILIDES, T. J. Sensitivity of *Monilinia fructicola* from stone fruit to thiophanate-methyl, iprodione, and tebuconazole. **Plant Disease**, v. 88, n. 4, p. 373-378, 2004.