



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS



MARIA ERIKA FRANCISCA DE SÁLES OLIVEIRA

**SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* A FUNGICIDAS E INFLUÊNCIA
DE PERÍODOS DE PERMANÊNCIA EM CÂMARA ÚMIDA SOBRE A
SEVERIDADE DA ANTRACNOSE EM ANONÁCEAS**

RIO LARGO - AL

2018

MARIA ERIKA FRANCISCA DE SÁLES OLIVEIRA

SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* A FUNGICIDAS E INFLUÊNCIA DE PERÍODOS DE PERMANÊNCIA EM CÂMARA ÚMIDA SOBRE A SEVERIDADE DA ANTRACNOSE EM ANONÁCEAS

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor (a) em Proteção de Plantas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Iraíldes Pereira Assunção.

Coorientador: Dr. Mariote dos Santos Brito Netto.

RIO LARGO - AL

2018

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

O48s Oliveira, Maria Erika Francisca de Sáles.
Sensibilidade de espécies de *Colletotrichum* a fungicidas e influência de períodos de permanência em câmara úmida sobre a severidade da antracnose / Maria Erika Francisca de Sáles Oliveira. – 2018.
70 f. : il.

Orientadora: Iraíldes Pereira Assunção.

Coorientador: Mariote dos Santos Brito Netto.

Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas. Rio Largo, 2018.

Inclui bibliografia.

1. Fungicidas – Princípios ativos. 2. Annona. 3. Ácido salicílico. 4. Pinha. 5. Graviola. I. Título.

CDU: 632.952:634.41

MARIA ERIKA FRANCISCA DE SÁLES OLIVEIRA

SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* A FUNGICIDAS E INFLUÊNCIA DE PERÍODOS DE PERMANÊNCIA EM CÂMARA ÚMIDA SOBRE A SEVERIDADE DA ANTRACNOSE EM ANONÁCEAS

Tese de doutorado submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas.

Prof.^a Dr.^a Iraíldes Pereira Assunção
Universidade Federal de Alagoas (Orientadora)

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Edna Peixoto Amorim
Universidade Federal de Alagoas (Examinador Interno)

Prof. Dr. Júlio Alves Cardoso Filho
Universidade Federal de Alagoas (Examinador Interno)

Prof.^a Dr.^a Juliana Paiva Carnáuba Ramos
Instituto Federal de Alagoas (Examinador Externo)

**Rio Largo - AL
2018**

À DEUS

Minha eterna gratidão.

AGRADEÇO

AOS MEUS PAIS

(Aprigio da Silva Oliveira e Maria Esmeralda de Sáles Oliveira,

MEU FILHO

(Erik Noah Monteiro Sales)

e IRMÃOS

(Emanuelle de Sáles Oliveira e Emerson Wilke de Sáles Oliveira)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A minha família sempre presente pela educação, exemplo, confiança e amor.

A minha orientadora Prof^a Dr^a Iraíldes Pereira Assunção pelo apoio, orientação, paciência e compreensão.

Ao meu coorientador Mariote dos Santos Brito Netto pelo apoio e orientação.

A banca examinadora por todos os ajustes, correções e ajuda.

A minha amiga Jaqueline Figueredo pela grande ajuda, apoio, amizade, compreensão e paciência.

As minhas amigas Lauristela Hermogines, Élide Marins, Janaíne Rossane, Maria Jussara e Jéssica pela grande ajuda nos experimentos, compreensão, amizade e alegrias.

Aos meus amigos da Pós Graduação Lindinalva, Izabel, Rubens, Jonathan, Fabiano pela amizade, companheirismo, carinho e alegrias.

Aos meus colegas do Laboratório de Fitopatologia e Vitologia Molecular.

Ao corpo docente do Programa de Pós Graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas.

Aos colegas e funcionários pelo apoio e incentivo.

A todos que de alguma forma colaboraram para realização desse trabalho.

“Do trabalho de tuas mãos comerás,

Feliz serás e tudo te irá bem”.

(Salmos 128:2)

RESUMO

As anonáceas possuem grande importância econômica no Brasil e no mundo, entre as principais espécies está a pinha (*Annona squamosa* L.) e graviola (*Annona muricata* L.). Essas frutíferas estão sujeitas a vários tipos de doenças, sendo a principal delas a antracnose, que tem como agente causal, espécies do gênero *Colletotrichum*, causando perdas significativas de até 70% da produção. O objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade *in vitro* de cinco espécies de *Colletotrichum* a cinco fungicidas de diferentes princípios ativos e as misturas de azoxistrobina + difenoconazole e azoxistrobina + SHAM, bem como avaliar a germinação de esporos das espécies de *Colletotrichum* e também a influência dos períodos de permanência em câmara úmida sobre a severidade da antracnose em pinha e graviola. Isolados de espécies de *Colletotrichum* foram cultivados em meio BDA sintético contendo os fungicidas (azoxistrobina, difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico, oxicloreto de cobre e azoxistrobina + difenoconazole) nas seguintes concentrações 0,0; 0,1; 0,5; 1; 5 e 10 µg de i.a. ml⁻¹ e azoxistrobina (10mg/ml⁻¹) + SHAM, incubados em BOD a 25 °C no escuro. As avaliações foram realizadas durante sete dias mediante a mensuração do crescimento micelial. O teste de inibição da germinação de conídios foi realizado com a diluição dos fungicidas em água destilada esterilizada (ADE), obtendo-se as concentrações de 0,1; 0,5; 1; 5; 10 µg ml⁻¹ dos fungicidas e concentração conidial de 2 x 10⁶ ml⁻¹. Foram utilizados dois períodos de permanência em câmara úmida (2 e 5 dias) em folhas de pinheira e gravioleira, nas temperaturas de 20, 25 e 30 °C. De acordo com os resultados, foi possível observar que os fungicidas difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico e azoxistrobina + difenoconazole apresentaram melhores desempenhos no controle *in vitro* com valores de ED₅₀ entre 0,1 a 0,75 mg/ml e inibição da germinação dos conídios das espécies de *Colletotrichum*, já o oxicloreto de cobre não conseguiu controlar satisfatoriamente. O fungicida azoxistrobina associado ao ácido salicilhidroxâmico (SHAM) inibiu totalmente o crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum*. A temperatura de 25 °C e o período de permanência de 5 dias favoreceu o aparecimento de sintomas de antracnose em folhas de pinha (*Annona squamosa* L.) e graviola (*Annona muricata* L.).

Palavras chave: *Annona*, ácido salicilhidroxâmico, umidade.

ABSTRACT

Anonáceas have great economic importance in Brazil and in the world, among the main species is the pine (*Annona squamosa* L.) and graviola (*Annona muricata* L.). These fruits are subject to several types of diseases, the main one being the anthracnose, which has as causal agent, species of the genus *Colletotrichum*, causing significant losses of up to 70% of the production. The objective of this work was to evaluate the in vitro sensitivity of five species of *Colletotrichum* to five fungicides of different active principles and the mixtures of azoxystrobin + difenoconazole and azoxystrobin + SHAM, as well as to evaluate the spore germination of *Colletotrichum* species and also the influence of periods of wet camera stay on the severity of anthracnose in pineapple and graviola. Isolates from *Colletotrichum* species were grown in synthetic BDA medium containing the fungicides (azoxystrobin, difenoconazole, tebuconazole, methyl thiophanate, copper oxychloride and azoxystrobin + difenoconazole) in the following concentrations; 0,1; 0,5; 1; 5 and 10 μg of i.a. ml^{-1} and azoxystrobin (10mg / ml^{-1}) + SHAM, incubated in BOD at 25 °C in the dark. The evaluations were carried out for seven days by measuring mycelial growth. The inhibition test of conidia germination was carried out with the dilution of fungicides in sterile distilled water (ADE), obtaining concentrations of 0,1; 0,5; 1; 5; 10 μg ml^{-1} of the fungicides and conidial concentration of 2×10^6 ml^{-1} . Two periods of stay in humid chamber (2 and 5 days) were used in pines and soursop leaves, at temperatures of 20, 25 and 30 °C. According to the results, it was possible to observe that the fungicides difenoconazole, tebuconazole, methyl thiophanate and azoxystrobin + difenoconazole showed better performance in the in vitro control with ED_{50} values between 0,1 and 0,75 mg / ml and inhibition of conidial germination of *Colletotrichum* species, copper oxychloride was not satisfactorily controlled. The fungicide azoxystrobin associated with salicylhydroxamic acid (SHAM) totally inhibited the mycelial growth of *Colletotrichum* species. The temperature of 25°C and the period of stay of 5 days favored the appearance of anthracnose symptoms in leaves of pineapple (*Annona squamosa* L.) and graviola (*Annona muricata* L.).

Keywords: *Annona*, salicylhydroxamic acid, moisture.

LISTA DE TABELAS

Tabela. 1 - Isolados de *Colletotrichum* provenientes de pinha e graviola em Alagoas.

Tabela. 2 - Fungicidas utilizados e seus demais grupos químicos.

Tabela. 3 – Efeito de fungicidas em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial da espécie *Colletotrichum theobromicola*.

Tabela. 4 – Efeito de fungicidas em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial da espécie *Colletotrichum fructicola*.

Tabela. 5 – Efeito de fungicidas em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial da espécie *Colletotrichum tropicale*.

Tabela. 6 - Efeito de fungicidas em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial da espécie *Colletotrichum siamense*.

Tabela. 7- Efeito de fungicidas em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial da espécie *Colletotrichum karstii*.

Tabela. 8 - ED₅₀ (concentração de ingredientes ativos capazes de inibir 50% do crescimento micelial) de diferentes espécies de *Colletotrichum* aos fungicidas

Tabela. 9 - Valores médios de porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. theobromicola* e a concentração mínima inibitória (CMI)¹.

Tabela. 10 - Valores médios de porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. fructicola* e a concentração mínima inibitória (CMI)¹.

Tabela. 11 - Valores médios de porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. tropicale* e a concentração mínima inibitória (CMI)¹.

Tabela. 12 - Valores médios de porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. siamense* e a concentração mínima inibitória (CMI)¹.

Tabela. 13 - Valores médios de porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. karstii* e a concentração mínima inibitória (CMI)¹.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Crescimento micelial (mm) de espécies de *Colletotrichum* ao ácido Salicilhidroxâmico (SHAM). Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*), Cs (*C. siamense*) e Ck (*C. karsti*).

Figura 2 - Espécies de *Colletotrichum* em meio BDA sem adição do SHAM (azoxistrobina 10 µg ml⁻¹) (A) e com adição do SHAM + azoxistrobina 10 µg ml⁻¹ (B). *C. theobromicola* (a.1 e b.1), *C. fructicola* (a.2 e b.2), *C. tropicale* (a.3 e b.3), *C. siamense* (a.4 e b.4), *C. karstii* (a.5 e b.5).

Figura 3 – Porcentagem de germinação de conídios de espécies de *Colletotrichum* submetidas a cinco concentrações dos fungicidas azoxistrobina (a), difenoconazole (b), tebuconazole (c), tiofanato metílico (d), oxiclóreto de cobre (e) e azoxistrobina + difenoconazole (g).

Figura 4 - Avaliação da permanência em câmara úmida em folhas de pinha, após 5 dias em diferentes temperaturas. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*), Cs (*C. siamense*) e Ck (*C. karsti*).

Figura 5 - Avaliação da permanência em câmara úmida em folhas de graviola, após 5 dias em diferentes temperaturas. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*), Cs (*C. siamense*) e Ck (*C. karsti*).

Figura 6 – Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas de pinha após 5 dias de inoculação na temperatura de 20 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*) e Cs (*C. siamense*).

Figura 7 - Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas de pinha após 5 dias de inoculação na temperatura de 25 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*) e Cs (*C. siamense*).

Figura 8 - Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas pinha após 5 dias de inoculação na temperatura de 30 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*) e Cs (*C. siamense*).

Figura 9 - Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas de graviola após 5 dias de inoculação na temperatura de 20 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*) e Cs (*C. siamense*).

Figura 10 - Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas de graviola após 5 dias de inoculação na temperatura de 25 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*) e Cs (*C. siamense*).

Figura 11 - Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas de graviola após 5 dias de inoculação na temperatura de 30 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*) e Cs (*C. siamense*).

SUMÁRIO

1. Introdução geral	10
2. Revisão de literatura	12
2.1 Anonáceas	12
2.1.1 Pinha (<i>Annona squamosa</i> L.).....	13
2.1.2 Graviola (<i>Annona muricata</i> L.).....	14
2.2 Importância econômica de pinha e graviola.....	15
2.3 Antracnose em pinha e graviola.....	16
2.4 Controle químico da antracnose em pinha e graviola.....	18
2.4.1. Azoxistrobina.....	19
2.4.2 Difenconazole.....	20
2.4.3 Tebuconazole.....	21
2.4.4 Tiofanato metílico.....	21
2.4.5 Oxicloreto de cobre.....	22
2.5 Ácido salicilhidroxâmico	23
2.6. Resistência a fungicidas	23
Referências	25
3. Sensibilidade de espécies de <i>Colletotrichum</i> a fungicidas	33
3.1 Introdução	35
3.2 Material e Métodos	37
3.2.1 Local do Experimento	37
3.2.2 Obtenção dos isolados fúngicos	37
3.2.3 Avaliação da sensibilidade micelial das espécies de <i>Colletotrichum</i> a fungicidas	38
3.2.4 Avaliação da sensibilidade das espécies de <i>Colletotrichum</i> ao Ácido Salicilhidroxâmico (SHAM)	39
3.2.5 Efeito dos fungicidas sobre a germinação de conídios das diferentes espécies de <i>Colletotrichum</i>	40
3.3 Resultados e Discussão	41
3.4 Conclusão	55
Referências	56
4. Influência de períodos de permanência em câmara úmida sobre a severidade da antracnose em folhas de <i>Annona squamosa</i> L. e <i>Annona muricata</i> L.	58
4.1 Introdução	60
4.2 Material e Métodos	61
4.2.1 Influência de períodos de permanência em câmara úmida sobre a severidade da antracnose em folhas de pinha (<i>Annona squamosa</i> L.) e graviola (<i>Annona muricata</i> L.).....	61
4.4 Resultados e Discussão	64
4.5 Conclusão	67
Referências	68

1. INTRODUÇÃO GERAL

As anonáceas compõem um grupo de plantas que têm se destacado em várias partes do mundo, principalmente por produzirem frutos de grande interesse comercial. Entre os mais destacados membros desta família, estão a graviola (*Annona muricata* L.), pinha (*Annona squamosa* L.), fruta condessa (*Annona reticulata* L.), cherimoia (*Annona cherimoia*, Mill.) e a atemóia (híbrido *A. squamosa* L. x *A. cherimoia* L.) (LEMOS, 2014). As espécies de anonáceas têm despertado grande interesse no mercado internacional de frutas *in natura* e processadas, bem como na produção de biocompostos de importância medicinal, alelopática ou praguicida e em diversos setores industriais (INOUE et al., 2009; LEMOS, 2014; SILVA et al., 2015).

Entre as anonáceas tropicais, a pinheira e a gravioleira são as mais conhecidas e a de maior importância econômica devido aos frutos serem aromáticos, açucarados e levemente ácidos. O teor de sólidos solúveis totais na pinheira pode ultrapassar 20° Brix, enquanto a elevada produção de açúcares, em especial de frutose, supera a de sacarose e determina o sabor acentuadamente doce dos frutos (ARAÚJO, 2003). A graviola está incluída no rol das frutas tropicais brasileiras de maior aceitação comercial no mercado nacional, graças à crescente demanda e interesse pela polpa, por parte do consumidor e das indústrias que utilizam o fruto como matéria-prima destinada ao processamento de sucos, doces, licores, frutas cristalizadas entre outros, sendo estas as formas mais comuns de consumo no nordeste brasileiro (RAMOS et al., 2001; MANICA et al., 2003; LOPEZ, 2005).

A expansão do cultivo de graviola enfrenta algumas limitações de ordem agrônômica em virtude da escassez de informações técnicas sobre os tratamentos culturais. De modo geral, o nível tecnológico adotado pela maioria dos produtores de graviola no Brasil é relativamente baixo em decorrência de entraves na difusão de tecnologias adequadas, como irrigação, adubação, poda, polinização artificial, proteção dos frutos e manejo de pragas, comprometendo a produtividade e a qualidade dos frutos (SILVA et al., 2012).

No Brasil, a pinheira e a gravioleira ocorrem em todas as regiões, porém na região Nordeste encontrou condições excepcionais de adaptação podendo ser cultivada em condições de sequeiro ou sob irrigação (OLIVEIRA et al., 2005), sendo o maior produtor brasileiro dessas culturas o estado da Bahia (LEMOS, 2014). No entanto, estas culturas estão sujeitas a várias doenças, sendo a antracnose aquela que causa os maiores prejuízos, tendo como agente causal espécies do gênero *Colletotrichum* (AMORIM, 2011).

As espécies de *Colletotrichum* incidem sobre folhas, ramos e frutos, em diversas fases do desenvolvimento, ocasionando manchas escuras que podem coalescer. Além de reduzir a produtividade e desqualificar comercialmente as frutas, provoca ferimentos ou lesões que favorecem a infestação de fungos oportunistas e insetos pragas (JUNQUEIRA, JUNQUEIRA, 2014). O patógeno cresce satisfatoriamente na faixa de 20-30 °C (ZAUZA, ALFENAS, MAFIA, 2007).

A busca de tecnologias para o aumento da produção de alimentos torna-se necessário, devido ao aumento da população mundial. Tais tecnologias visam combater alguns fatores que são limitantes à produção agrícola, como é o caso de doenças, pragas e plantas espontâneas. Para o combate a doenças, os produtos químicos é a tecnologia mais usada nos plantios comerciais (GHINI, KIMATI, 2000).

Devido à inexistência de fungicidas registrados para as anonáceas vem sendo utilizado atualmente fungicidas que apresentam eficiência no controle da antracnose em diversas outras culturas (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014). Vários autores vêm utilizando fungicidas do grupo dos benzimidazóis, estrobilurinas e triázóis no controle da antracnose em anonáceas, na cultura do pimentão (TORRES-CALZADA et al., 2015; AZEVEDO et al, 2006), milho (BRITO et al, 2012) e manga (JUNIOR et al., 2003).

Visando direcionar o melhor manejo no controle da antracnose em anonáceas devido a detecção de espécies de *Colletotrichum* resistentes a fungicidas, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade *in vitro* de cinco espécies de *Colletotrichum* a cinco fungicidas de diferentes princípios ativos e as misturas de azoxistrobina + difenoconazole e azoxistrobina + SHAM, bem como avaliar a germinação de esporos das espécies de *Colletotrichum* e também a influência dos períodos de permanência em câmara úmida sobre a severidade da antracnose em pinha e graviola.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anonáceas

As anonáceas pertencem à ordem *Magnoliales* da família *Annonaceae*, sendo o maior grupo das angiospermas, constituída por 120 gêneros, e aproximadamente 230 espécies, e a maioria é originária de regiões tropicais e subtropicais no mundo. No Brasil, estão registrados 29 gêneros, onde 260 espécies possuem importância econômica (SOBRINHO, 2010).

Os gêneros mais importantes são: *Annona*, *Rollinia*, *Albernonoa*. No gênero *Rollinia*, tem-se *Rollinia silvatica* (araticum-do-mato), *Rollinia mucosa* (biribá), *Rollinia esalbida* (araticum ou quaresma) e no gênero *Albernonoa*, *Albernonoa purpuracea* (marolo) e a *Albernonoa lanceolata* (pindaíba) (MANICA, 1994). No gênero *Annona*, as principais espécies cultivadas para comercialização, são a graviola (*Annona muricata* L.), pinha, ata ou fruta do conde (*Annona squamosa* L.), fruta condessa (*Annona reticulata* L.), cherimoia (*Annona cherimoia*, Mill.) e a atemóia (híbrido *A. cherimoia*, Mill. e *A. squamosa* L.), muito utilizadas na indústria de suco e polpa e para o consumo *in natura* (SOBRINHO, 2010).

As espécies do gênero *Annona* são classificadas como árvores lenhosas de porte arbustivo, variando de 5 a 11 m com raízes abundantes. São plantas alógamas com flores hermafroditas apresentando dicogamia protogínica. Sua polinização é de forma natural, mas também realizada por insetos. Seus frutos são apocárpicos baciformes, em forma de baga e carnosos em algumas espécies, em outros são úteis como plantas ornamentais (LEON, 1987). Segundo Hernández (1993), os frutos das anonáceas apresentam características comuns, são diferentes em relação a sua forma, tamanho, cor externa, cor interna e número de sementes.

Uma característica marcante dos indivíduos do gênero *Annona* é que sempre se apresentam com cascas aromáticas, folhas alternas, inteiras e simples de nervação pinada. As folhas não têm estípulas, mas tem ramificações dísticas, dispostas em duas fileiras sempre dispostas em um mesmo plano. As flores estão inseridas axilarmente, nascem algumas vezes das cicatrizes foliares na madeira mais antiga e outras vezes a partir de um broto novo de folha (ARAUJO, 2017).

O gênero *Annona* possui uma grande variabilidade genética, não apenas pela grande quantidade existente de espécies, mas pela diversidade que existe dentro de cada espécie. Além da variabilidade existente nos centros de diversidade genética e bancos de germoplasma, as espécies mais importantes encontram-se distribuídas em diversas regiões

tropicais e subtropicais, e vem passando pelo processo evolutivo e domesticação ao longo do tempo (FERREIRA, 1997).

As anonáceas mais importantes economicamente são propagadas por sementes e preferencialmente por enxertia, devido a uma melhor homogeneidade das espécies (MANICA, 2003). Estudos com várias espécies de *annona* comprovam que as acetogeninas presentes em partes da planta, como na folha, frutos, caule, raízes e sementes tem propriedades medicinais, principalmente como antiparasíticos, antitumorais, antidiabéticos, antiinflamatório e também muito eficiente no controle de insetos praga (KRINSKI et. al., 2014; RIBEIRO et. al., 2014).

2.1.1 Pinha (*Annona squamosa* L.)

A pinha também chamada de ata ou fruta-do-conde tem origem na América tropical, na Ilha de Trindade e nas Antilhas, foi introduzida no Brasil em 1926 pelo Conde de Miranda no Estado da Bahia, onde o clima do Nordeste favoreceu o desenvolvimento dessa frutífera (KAVATI, 1992).

Os principais países produtores são Índia, Brasil, Tailândia, Filipinas e Cuba. No Brasil, o estado que possui maior destaque na produção da pinha é a Bahia (Presidente Dutra, Anagé, Caraíbas) e em Minas Gerais, no município de Jaíba. Outros estados produtores são Alagoas, Pernambuco, São Paulo e Minas Gerais (SÃO JOSÉ et al., 2014). Os produtores despertaram um grande interesse pelo cultivo da pinha devido à fácil adaptação edafoclimática e o elevado preço que suas frutas alcançam (OLIVEIRA et al., 2006).

A pinha é uma planta considerada de pequeno porte, apresentando 4 a 6 m de altura, sendo bastante ramificada. Apresentam folhas lanceoladas, decíduas, de coloração verde brilhante na parte superior e coloração verde azulada na parte inferior das folhas. Suas flores são hermafroditas, isoladas ou em grupos de dois a quatro, surgindo na maioria em ramos de crescimento anual. As folhas são formadas por três pétalas e três sépalas (MANICA, 2003).

Os frutos são considerados sincarpas, arredondado, esférico e ovóide. A casca possui coloração amarelo esverdeada com textura rugosa, apresentando coloração da polpa branca a creme, com grande quantidade de sementes. O peso médio de seus frutos é entre 200 a 400g, sendo que a maior parte é da polpa (52,5%), casca (38,2%) e nas sementes (7,6%) (FILHO et al., 1998). A época de maior produção da pinha acontece entre os meses de janeiro e março (AMORIM, 2009).

A pinha é fonte de vitaminas B1, B2, B5 e C, proteínas e sais minerais, como o cálcio, ferro e fósforo. Seus frutos são consumidos *in natura*, na forma de doces, sucos, cremes, sorvetes, musses, etc (KIMATI, 1997). Também são recomendados para pessoas que possuem anemia, desnutridas e com deficiência intelectual. Na medicina popular sua utilização serve para o tratamento de câimbras, convulsões e tônico para fortalecer o intestino e o estômago e também para evitar a desnutrição (GRENME, 2017).

A pinheira possui algumas seleções, dentre eles estão a IPA-18.2, IPA-17-2 e IPA-17-3 desenvolvidas por Carvalho et al., (2000). A variedade Brazilian Seedless foi a única desenvolvida no Brasil, mas o seu plantio não foi promissor devido a irregularidade de seus frutos e por apresentarem problemas fitossanitários (PEREIRA, 2011). No entanto, não existem cultivares de pinheira definidos, mas os produtores utilizam a tradicional cv “Crioula”, que é cultivada desde o século XVII na Bahia, introduzida pelo Conde de Miranda (LEMOS, 2005). Em Alagoas no município de Palmeira dos Índios tem utilizado uma planta mutante, com características fisiológicas diferentes da cv. Crioula e tem sido denominada com cv “Verdinha”, por ter como principal característica a coloração verde de suas folhas e frutos. Essa cultivar vem sendo clonada pela Universidade Federal de Alagoas desde o ano 2000 (LEMOS, 2010).

2.1.2 Graviola (*Annona muricata* L.)

A gravioleira também chamada de anona-de-espinho, jaca-de-pobre, jaca-do-pará, araticum-manso, araticum-grande, coração-de-rainha, é uma planta originária da América Central e do Norte da América do Sul, sendo disseminada por toda faixa equatorial do mundo (CORREA, 1931).

No Brasil, foi introduzida no século XVI pelos portugueses e atualmente está amplamente cultivada nos Estados de Alagoas, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Pará e Minas Gerais (LIMA, 2004), principalmente na região nordeste, tendo a Bahia como principal produtor com mais de 1.300 ha de área plantada (VILASBOAS, 2012).

A gravioleira é uma planta de pequeno porte, apresentando altura de 3,5 à 8 m, copa pequena, com folhas inteiras, ovaladas, oblongas ou elípticas, coriáceas, duras, de pecíolos curtos e coloração verde escura brilhante. As flores quando estão no estágio de capulho possuem formato subgloboso ou piramidal, são hermafroditas e possuem coloração verde escura, quando estão em fase de crescimento e coloração verde clara e perto da antese (MANICA, 2003).

O fruto é uma baga composta, frutos múltiplos ou sincarpo, carnoso pesando cerca de 1 kg até 10 kg, com formato elipsoidal ou ovóide (MANICA, 1997). O formato varia em função dos óvulos que não foram fecundados. A casca é de cor verde-escura, quando os frutos estão imaturos, e verde-clara, quando no ponto de colheita, possui espículas carnosas moles e recurvadas (PINTO, SILVA, 1994).

A polpa apresenta coloração branca, formando gomos, sucosa, agridoce, de cheiro e sabor muito agradáveis, contendo proteínas, gorduras, carboidratos, cálcio, fósforo, ferro e vitaminas A, B, B1 e C. É utilizado geralmente na produção de sucos naturais ou para o processamento industrial, na produção de refrescos, sucos concentrados, polpas congeladas, néctares, sorvetes, geleias, cremes e bebidas lácteas (MANICA et al., 2003; LOPEZ, 2005; CUIDAR, 2016). Quando consumida ao natural, a graviola é de difícil digestão, devido à alta porcentagem de celulose (1,8%) (ABPA, 2007, LOPEZ, 2005). Possui até 490 sementes, as quais são obovoides, aplainadas, medem de 17 a 20 mm de comprimento e pesam de 0,57 a 0,61g, com a testa dura e de cor marrom-escura brilhante (SACRAMENTO et al., 2009).

As cultivares existentes de graviola são a Nordestina ou Crioula e a Morada. A cultivar Nordestina possui frutos condiformes pesando em torno de 1,5 à 3,0 kg, apresentando polpa mole e doce. Já a cultivar Morada apresenta frutos grandes, pesando em torno de 3,0 a 10 kg, possui forma redonda e condiforme, com polpa firme, sabor subácido a ácido (IPA, 2016).

2.2 Importância econômica de pinha e graviola

Os principais países produtores de anonáceas são México, Brasil, Austrália, Venezuela, Chile, Peru e Filipinas (PEREIRA, 2011). O Brasil vem se destacando no mercado internacional como país produtor, consumidor e exportador de frutas nativas e principalmente tropicais. Dentre as frutas tropicais, está a pinha e a graviola, que são as mais populares dentre as anonáceas na maioria dos Estados (LEMOS, 2014). Essas espécies comercializadas produzem frutos aromáticos de sabor doce agradável e pouco ácido, entretanto, esses frutos possuem limitações para a exportação, devido ao rápido amadurecimento, tornando muito macios, sendo difíceis de manusear sem danos e conservação bastante reduzida (MOSCA et al. 2006).

Segundo Watanabe et al., (2014), a análise do comportamento no mercado das principais anonáceas: graviola (*A. muricata*) e pinha (*A. squamosa*) é relevante na tomada de decisão dos produtores e comerciantes. De acordo com dados do IBGE (2009), o nordeste do

Brasil tem bastante destaque na produção de pinha com 94% de área plantada. A maior produção concentra-se no Estado da Bahia, com área total de mais de 3.500ha cultivados e produção de 20,8 mil toneladas.

Em 2008, foi criado o APL Fruticultura Pinha na região do Agreste em Alagoas. No APL, estão cadastradas 90 famílias produtoras distribuídas nos municípios de Estrela de Alagoas, Igaci e Palmeira dos Índios, com o objetivo de ampliar e conquistar novos mercados para a produção da fruta em Alagoas. Esses três municípios correspondem a 90% de produção da pinha no estado de Alagoas, que cada vez mais estão intensificando sua produtividade, para distribuição em diversas regiões e estados (AGROLINK, 2017).

2.3 Antracnose em pinha e graviola

A antracnose ou “podridão-negra-dos-frutos” é considerada a doença mais importante das anonáceas, chegando a provocar de 53 a 70 % de perdas de frutos quando ocorrem chuvas prolongadas durante a floração e formação de frutos. Incide preferencialmente nos tecidos jovens de folhas, ramos, flores e frutos (JUNQUEIRA, JUNQUEIRA, 2014).

A doença é causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, sendo a fase de germinação do patógeno responsável pelos processos infecciosos e consequente desenvolvimento dos sintomas da antracnose em anonáceas e em outras culturas hospedeiras de importância agrícola (FREIRE, CARDOSO, 1997).

Os sintomas de antracnose na pinheira são caracterizados, nas folhas, por manchas de coloração pardo-escuro ou preta, com o centro mais claro, de contorno irregular, distribuídas por todo o limbo foliar. As folhas ficam deformadas e, em ataques mais severos, ocorre desfolhamento. As lesões, inicialmente, são pequenas, mas, com o passar do tempo, podem atingir mais de um centímetro de diâmetro. Nos ramos, são encontradas lesões alongadas, deprimidas, que podem provocar a morte das ponteiros. Nas flores, aparecem manchas circulares, de coloração castanho-escuro, que impedem o vingamento e provocam quedas expressivas (JUNQUEIRA, JUNQUEIRA, 2014).

Os frutos podem ser atacados em qualquer estágio de desenvolvimento. Nos frutos jovens, ocorre escurecimento de toda a sua superfície, queda e mumificação. Em frutos desenvolvidos, que estão iniciando o seu amadurecimento, ou nos maduros, causa uma podridão escura de rápida evolução, inutilizando o fruto para o consumo ou para sua comercialização (JUNQUEIRA et al., 2003).

Na gravioleira o ataque da antracnose ocorre nas folhas, brotações novas, flores e frutos de qualquer idade, causando a morte de ramos, enxertos, queda de frutos e flores. Os sintomas caracterizam-se pela morte das brotações novas ou ramos ponteiros e pela formação de lesões necróticas escuras e irregulares nas folhas e nas brotações novas. Quando as condições climáticas são muito favoráveis, o fungo pode atacar os botões florais, frutos de qualquer idade e até causar a morte de ramos ponteiros. Quando ataca frutos novos, estes se tornam escuros, mumificados e permanecem na planta por algum tempo. Em mudas enxertadas, o patógeno pode atacar o ponto de ligação enxerto/porta- enxerto, reduzindo drasticamente a taxa de pegamento da enxertia ou provocando a morte dos enxertos (JUNQUEIRA, JUNQUEIRA, 2014).

A infecção é favorecida por temperaturas de 25 °C, que é a ideal ao desenvolvimento do apressório, e um período de 12 a 18 horas de umidade, promovido por chuvas de final de tarde ou orvalho noturno. As condições climáticas ideais para o desenvolvimento da doença ocorrem com umidade acima de 95%, presença de água livre (ROBERTS et al., 2012; TAVARES, SOUZA, 2005; LOPEZ, 2005). Os efeitos da temperatura em relação ao diâmetro das lesões desenvolvidas pelo hospedeiro podem variar com meio de cultura e o estágio de desenvolvimento dos organismos (ZAUZA et al., 2007).

A disseminação da doença ocorre pela água, vento, animais, ferramentas e utensílios agrícolas que carregam esporos e micélios presentes no solo, em restos de cultura, em ramos secos, em pecíolos e folhas velhas até o hospedeiro (TAVARES, SOUZA, 2005; PUTZKE, J., PUTZKE, 2002). O fungo consegue sobreviver em frutos infectados ou mumificados por mais de dois anos (FERRARI et al., 2011). As mudas, também, podem atuar como inoculo primário contribuindo para a introdução da doença em novas áreas, visto que é difícil a identificação de sintomas nesta fase (KOSOSKI et al., 2001). Sementes contaminadas também constituem um importante meio de disseminação da doença (GUIMARÃES, 2011).

A disseminação do patógeno pode ser rápida quando não é feito um controle efetivo da doença através da aplicação preventiva de fungicidas e remoção de folhas, flores e frutos doentes, visando reduzir o potencial de inoculo dentro da cultura.

O vento e respingos de chuva são muito eficientes na dispersão de esporos a partir de órgãos infectados da planta dentro da cultura (FERRARI et al., 2011; COLATTO, 2010).

No Brasil, a espécie *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) foi relatada como responsável por causar antracnose em plantas de anonáceas (FREIRE, CARDOSO 1997), assim como em outros países da América do Sul, onde há plantações comerciais de espécies da mesma família (FREIRE, CARDOSO, 1997; ÁLVAREZ et al., 2004). Segundo

Villanueva-Arce et al.,(2005; 2008), foram encontrados isolados de *C. fragariae* e *C. gloeosporioides* em frutos de cherimóia em plantações no México. Na Colômbia, *C. acutatum* foi isolado de frutos de *Annona muricata* (ÁLVAREZ et al., 2004) e em Alagoas foram identificadas por Costa (2014), cinco espécies de *Colletotrichum* causando antracnose em folhas de graviola (*A. muricata*) e pinha (*A. squamosa*), identificadas como: *C. tropicale*, *C. karstii*, *C. siamense*, *C. theobromicola* e *C. fructicola*. Sendo *C. fructicola* relatada pela primeira vez no Brasil em folhas de pinheira e gravioleira (COSTA et al., 2017).

2.4 Controle químico da antracnose em pinha e graviola

O controle químico de doenças de plantas é uma medida bastante utilizada, eficaz e necessária quando se tem cultivares susceptíveis, e também quando existem condições favoráveis ao rápido desenvolvimento do patógeno no campo. Apesar das restrições impostas ao uso de fungicidas no controle de doenças pelos programas de produção integrada de frutas, nenhum outro método de controle consegue satisfazer consistentemente o mesmo nível de prevenção desses produtos, assim os fungicidas vêm sendo muito utilizados durante e após a colheita (ANDRIGUETO, KOSOSKI, 2003; TRIPATHI, DUBEY, 2004).

Entretanto, o controle químico não deve ser considerado como única alternativa de controle das doenças de plantas, existem também outros tipos de controle que vem sendo utilizado em anonáceas, que consiste na realização de podas periódicas, retirada de todos os galhos secos e frutos mumificados das plantas que se encontram no chão da área de plantio, queimá-los ou enterrá-los, visando diminuir a fonte de inóculo do fungo (CORDEIRO et al., 2000).

Com a inexistência de fungicidas registrados para cultura da pinheira e gravioleira, vem sendo utilizado atualmente fungicidas que apresentam certa eficiência no controle da antracnose em diversas outras culturas. Em pinheira, recomenda-se realizar pulverizações preventivas intercaladas com fungicidas à base de oxiclreto de cobre (2g/L) intercalando com Manconzeb (2g/L) em intervalos de sete dias durante períodos de chuva, e quando necessário entre 20 ou 30 dias nos períodos de seca. Também existem outros fungicidas considerados eficientes, que são do grupo dos benzimidazóis, triazóis e estrobilurinas, porém, não estão registrados junto ao Ministério da Agricultura para uso em anonáceas (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014).

Na gravioleira são feitas aplicações de oxiclreto de cobre a 0,15% (JUNQUEIRA et al., 1996), intercalando com tebuconazole, difenoconazole ou estrobilurinas, em intervalos de

7 a 10 dias, durante o período chuvoso, e de 15 a 20 dias durante o período seco. A primeira aplicação deve ser realizada após o florescimento. Aplicações com mancozeb a 0,24% e tiofanato metílico a 0,14% também controlam bem a doença (LOPEZ, 1997; JUNQUEIRA et al., 2003; JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014).

2.4.1. Azoxistrobina

A azoxistrobina ($C_{22}H_{17}N_3O_5$) é um fungicida do grupo químico das estrobilurinas, da classe dos sistêmicos e de contato, medianamente tóxico, possui mobilidade mesosistêmica, tendo afinidade pela superfície foliar, que pode ser absorvida pela camada de cera, formando um reservatório na superfície do órgão suscetível ao patógeno. Este fungicida possui características lipofílicas, cujos reservatórios se aderem fortemente a camada de cera da cutícula, apresentando maior resistência a remoção das gotas de chuva ou irrigação, sendo melhor absorvido que os protetores e tem como nome comercial Amistar 500 WG (REIS; BRESÓLIN, 2007).

O grupo das estrobilurinas relativamente recente vem sendo testado no controle de diversas doenças de plantas incluindo doenças de pós-colheita (OLIVEIRA et al, 2006). Estes compostos fazem parte do grupo dos inibidores de quinona oxidase (QoI), cuja toxicidade advém da inibição da cadeia respiratória ao nível do Complexo III, impedindo a cadeia bioquímica de transferência de elétrons no sítio da mitocôndria, interferindo na respiração do patógeno (GHINI, KIMATI, 2000; AVILA-ADAME et al., 2003; VINCELLI, 2002). No entanto, foi observado um mecanismo de respiração alternativo de isolados fúngicos a estrobilurinas. Esse relato indica a existência do potencial genético e bioquímico para o desenvolvimento de uma rota alternativa de fungos a fungicidas inibidores de quinona (MARKOGLU et al., 2006). Vários autores utilizaram a azoxistrobina de forma eficiente no controle da antracnose em culturas como: pimentão (AZEVEDO et al, 2006), milho (BRITO et al, 2012) e manga (JUNIOR et al, 2003).

2.4.2 Difenconazole

O difenoconazole ($C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$) é um fungicida do grupo químico dos triázóis, da classe dos sistêmicos, extremamente tóxico, com ação preventiva e curativa agindo também como antiesporulante dos fungos, evitando também a penetração dos haustórios(SCORE-

ADAPAR; SYNGENTA, 2016). Seu modo de ação é interferindo a biossíntese de esteróis na membrana celular (SYNGENTA, 2016).

Tem como nome comercial Score® Ec, registrado pelo Ministério da agricultura no controle de doenças em culturas, tais como: abacate (*Sphaceloma perseae*; *Colletotrichum gloeosporioides*), abobrinha (*Sphaerotheca fuliginea*), álamo (*Melampsora medusae*), alface (*Septoria lactucae*), algodão (*Ramularia aréola*), alho (*Alternaria porri*), amendoim (*Cercospora arachidicola*; *Pseudocercospora personata*; *S. arachidis*), arroz (*Bipolaris oryzae*), banana (*Mycosphaerella musicola*; *M. fijiensis*), batata (*Alternaria solani*), berinjela (*Phoma exigua* var. *exigua* 3), beterraba (*C. beticola*), café (*C. coffeicola*), cebola (*A. porri*), cenoura (*A. dauci*), citros (*Elsinoe australis*; *C. gloeosporioides*), coco (*Lasiodiplodia theobromae*; *Bipolaris incurvata*), couve-flor (*A. brassicae*), ervilha (*Erysiphe polygoni*), feijão (*Phaeoisariopsis griseola*; *Uromyces appendiculatus*), girassol (*E. cichoracearum*; *A. helianthi*), maçã (*Venturia inaequalis*; *Podospaera leucotricha*; *Entomosporium mespili*), mamão (*Asperisporium caricae*), manga (*Oidium mangiferae*; *C. gloeosporioides*; *L. theobrome*), maracujá (*C. gloeosporioides*), melancia (*Didymella bryoniae*), melão (*D. bryoniae*), morango (*M. fragariae*), pepino (*S. fuliginea*), pêssego (*Monilinia fructicola*), pimentão (*Cercospora capsici*), rosa (*S. pannosa*; *Diplocarpon rosae*), soja (*C. dematium*; *Phomopsis sojae*; *Septoria glycines*; *C. kikuchi*; *Microsphaera diffusa*; *Phakopsora pachyrhizii*), tomate tutorado (*A. solani*; *S. lycopersici*) e uva (*Elsinoe ampelina*; *Uncinula necator*; *Pseudocercospora vitis*) (SCORE-ADAPAR, 2016).

2.4.3 Tebuconazole

O tebuconazole (C₁₆H₂₂CIN₃O) é um fungicida do grupo dos triazóis, da classe dos sistêmicos, medianamente tóxico, com ação preventiva e curativa, inibe a síntese de ergosterol, substância essencial na integridade da membrana celular dos fungos, sendo um potente indutor do sistema enzimático hepático citocromo P450 (AGROBAYER, 2017). Tem como nome comercial Folicur 200EC, registrado pelo Ministério da agricultura para controle em culturas, tais como: abacaxi (*Fusarium subglatiuns*), álamo (*Melampsora medusae*), algodão (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*), alho (*Puccinia alli*, *Alternaria porri*), amendoim (*Cercospora arachidicola*, *Pseudocercospora personata*), arroz (*Bipolaris oryzae*, *Pyricularia grisea*), aveia (*P. coronata* var. *avenae*, *Drechslera avenae*), Banana (*Mycosphaerella musicola*; *M. fijiensis*), batata (*Alternaria solani*), berinjela (*A. solani*), beterraba (*Cercospora beticola*), cacau (*Crenipellis pernicioso*), café (*Hemileia vastratrix*,

Ascochyta coffeae, *Phoma costaricensis*, *Cercospora coffeicola*), cebola (*A. porri*), cenoura (*Alternaria dauci*), cevada (*P. hordei*, *Bipolaris sorokiniana*, *Blumeria graminis* f. sp. *Hordei*), crisântemo (*P. horiana*), feijão (*Uromyces appendiculatus*, *Phaeoisariopsis griseola*, *Alternaria alternata*), figo (*Cerotelium fici*), gladiolo (*Uromyces transversalis*), goiaba (*P. psidii*), mamão (*C. gloesporioides*), manga (*Oidium mangiferae*, *C. gloesporioides*), maracujá (*C. gloesporioides*, *Cladosporium herbarum*), melancia (*Sphaeroteca fuliginea*, *Didymella bryoniae*, *C. orbiculare*), melão (*S. fuliginea*, *D. bryoniae*), milho (*P. polisor*, *P. sorghi*, *C. zea maydis*), morango (*M. fragariae*), pepino (*S. fuliginea*, *Leandria momordicae*), pêssego (*Tranzchelia discolor*, *Monilinia fructicola*), pimentão (*C. melongeneae*), roseira (*Diclocarpon rosae*), sorgo (*C. africana*), soja (*Microsphaera diffusa*, *C. kikuchii*, *Septoria glycines*, *Phakopsora pachyrhizi*), tomate (*S. lycopersici*, *A. solani*), trigo (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*, *P. triticina*, *P. graminis*, *F. graminearum*, *Pyricularia grisea*), uva (*Uncinula necator*, *C. gloesporioides*, *P. euvtis*) (FOLICUR-ADAPAR, 2017).

2.4.4 Tiofanato metílico

O tiofanato metílico (C₁₂H₁₄N₄O₄S₂) é um fungicida do grupo dos benzimidazóis da classe dos sistêmicos, extremamente tóxico, seu modo de ação atua interferindo a β-tubulina, na formação dos microtúbulos que fazem parte do citoesqueleto, inibindo o processo de mitose. Esse fungicida apresenta certa eficiência em uma ampla gama de fungos (ECKERT, OGAWA, 1985; RODRIGUES, 2006). O tiofanato metílico pode ser usado tanto na parte aérea das plantas como também no tratamento de sementes. Esse fungicida não apresenta fitotoxicidade nas plantas (MAPA, 2017). Tem como nome comercial Cercobin 700WP, registrado pelo Ministério da agricultura para controle de várias doenças na cultura do abacaxi (*Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*), abóbora (*Sphaerotheca fuliginea*; *Colletotrichum orbiculare*; *Leandria momordicae*), alho (*C. gloesporioides*), antúrio (*Botrytis cinerea*), begônia (*B. cinerea*), berinjela (*C. gloesporioides*; *Phoma exigua* var. *exigua*; *B. cinerea*; *Sclerotinia sclerotiorum*), café (*C. gloesporioides*; *P. exigua* var. *exigua*; *B. cinerea*; *S. sclerotiorum*), cebola (*C. gloesporioides* f.sp. *cepae*), citros (*Diaporthe citri*; *Corticium salmonicolor*; *C. gloesporioides*; *Elsinoe australis*; *E. fawcetti*; *B. cinerea*; *Penicillium digitatum*; *P. italicum*), cravo (*B. cinerea*), crisântemo (*B. cinerea*; *Puccinia horiana*; *Oidium chrysanthemi*), feijão (*S. sclerotiorum*), gladiolo (*B. gladiolorum*), hortência (*B. cinerea*), maçã (*Venturia inaequalis*; *Cladosporium carpophilum*; *Podosphaera leucotricha*; *B. cinerea*; *Monilinia fructicola*; *C. gloesporioides*; *Neonectria galligena*), mamão (*O.*

caricae), melancia (*C. orbiculare*; *Leandria momordicae*; *Alternaria cucumerina*; *Cercospora citrullina*; *Sphaerotheca fuliginea*; *S. sclerotiorum*), melão (*C. orbiculare*; *Leandria momordicae*; *A. cucumerina*; *Sphaerotheca fuliginea*; *S. sclerotiorum*), morango (*B. cinerea*; *Mycosphaerella fragariae*; *Diplocarpon earlianum*; *Phomopsis obscurans*), orquídeas (*B. cinerea*), rosa (*Diplocarpon rosae*; *B. cinerea*; *S. pannosa*), seringueira (*Microcyclus ulei*), soja (*Septoria glycines*; *Cercospora kikuchii*, *Erysiphe diffusa*), tomate (*Septoria lycopersici*; *B. cinerea*; *S. sclerotiorum*; *Fulvia fulva*) e uva (*Elsinoe ampelina*; *Uncinula necator*; *B. cinerea*; *Pseudocercospora vitis*; *C. gloeosporioides*) (CERCOBIN-ADAPAR, 2016).

2.4.1.5 Oxicloreto de cobre

O oxicloreto de cobre ($Cu_2Cl(OH)_3$) é um fungicida cúprico do grupo químico inorgânico, da classe de contato, pouco tóxico, com ação preventiva, seu modo de ação atua inibindo a ação de enzimas (OXIQUIMICA, 2017). Tem como nome comercial Recop®, registrado pelo Ministério da agricultura para controle de várias doenças em culturas, tais como: abacate (*Colletotrichum gloeosporioides*, *Pseudocercospora purpúrea*), amendoim (*Cercospora arachidicola*, *P. personata*, *Sphaceloma arachidis*), batata (*Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*), cacau (*Erythricium salmicolor*, *P. palmivora*, *Crinipellis pernicioso*, *C. coffeicola*), citros (*C. gloeosporioides*, *P. citrophthora*, *P. nicotianae* var. *parasitica*, *Diaporthe citri*, *Elsinoe fawceti*, *Corticium solmonicolor*, *Elsinoe australis*), figo (*Ceritium fici*, *P. nicotianae*), goiaba (*Puccinia psidi*), mamão (*C. gloeosporioides*, *Asperisporium caricae*), manga (*Elsinoe mangiferae*), tomate (*C. cocodes*, *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Stemphylium solani*, *A. solani*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *P. infestans*), uva (*Mycosphaerella personata*, *Elsinoe ampelina*) (RECOP, 2017).

2.5 Ácido Salicilhidroxâmico (SHAM)

O ácido salicilhidroxâmico é um agente complexante de ferro que tem a capacidade de inibir a cadeia respiratória alternativa da enzima oxidase alternativa (AOX), encontrada nas mitocôndrias de plantas superiores, fungos, leveduras e em protozoários, sendo responsável pela respiração definida como insensível a antimicina A (AA) e cianeto, dois inibidores conhecidos da cadeia clássica de transporte de elétrons (VANLERBERGHE; MCINTOSH, 1997; CAMPOS, 2014). Essa existência de uma cadeia respiratória ramificada confere aos

fungos uma rápida e grande plasticidade metabólica que está associada à adaptação a estresses ambientais e proteção contra espécie reativa de oxigênio (EROs).(BUCHANAM, 2000).

A enzima AOX apresenta sensibilidade ao ácido salicilhidroxâmico (SHAM) e ao ácido benzohidroxâmico (BHAM). A atuação dessa enzima oxidase alternativa foi encontrada na fase biótrfica de *M. pernicioso*, apresentando sensibilidade ao crescimento do micélio na presença do SHAM, inibindo o seu desenvolvimento (THOMAZELLA et al., 2012).

2.6 Resistência a fungicidas

Os fungos fitopatogênicos com o uso contínuo de fungicidas podem desenvolver resistência aos produtos químicos devido à pressão de seleção e mutação (CULTIVAR, 2017). As mutações são causadas por eventos aleatórios conferindo o patógeno a possibilidade de sobreviver quando a substância química está presente. Esses eventos, mutação e seleção constituem bases moleculares de resistências em diversos microorganismos.

Geralmente eles podem ocorrer no gene que codifica a proteína alvo, alterando sua forma e também no transporte das substâncias químicas (BRUNTON et al., 2012). Resistência a fungicidas do grupo dos benzimidazóis, como o tiofanato metílico tem sido detectada em muitas espécies de fungos. Na maioria dos casos a resistência está correlacionada com mutação no gene da β -tubulina dos fungos, ligando-se a essa proteína na qual irá dificultar a polimerização dos microtúbulos que formam o fuso mitótico (KENDALL et al., 1994; WHEELER et al., 1995). Com isso, ocorre a resistência aos fungicidas desse grupo químico, resultando numa alta pressão de seleção devido ao seu uso intensivo.

Os fungicidas do grupo das estrobilurinas conhecida como fungicidas inibidores de quinona oxidase ou fungicidas (IQo) (PARREIRA et al., 2009), também possuem ação específica sobre o patógeno e apresentam alto risco de resistência. As estrobilurinas interferem na respiração mitocondrial, atuando no sítio Qo, bloqueando a transferência de elétrons pelo complexo citocromo (*bcl*) (GHINI; KIMATI, 2000). Já os fungicidas do grupo dos triázóis também chamados de fungicidas DMI (inibidores da dimetilação), podem ativar um número diferente de mecanismos de resistência, não relacionados entre si, podendo agir simultaneamente e ainda de modo sinérgico, esse grupo químico se caracteriza por inibir a biossíntese de ergosterol, importante componente da membrana celular dos fungos sensíveis, que são caracterizados por atuar primariamente na demetilação do C-14 (BRENT, 1995).

REFERÊNCIAS

- AGROBAYER. Produtos: Tebuconazole. Disponível em: <<https://www.agro.bayer.com.br/produtos/nativo>> Acesso: 12/06/2017.
- AGROLINK. Apl da pinha. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/fruticultura-no-agreste-investe-na-producao-integrada_119568.html Acesso em 10/05/2017.
- ÁLVAREZ, E., OSPINA, C. A., MEJÍA, J. F., LLANO, G. A. Caracterización morfológica, patogénica y genética del agente causal de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) em guanábana (*Annona muricata*) em el Valle del Cauca. **Fitopatología Colombiana**. v. 28, p. 1-8, 2004.
- AMORIM, M. Disponível em: <<http://www.agricultura.al.gov.br/sala-de-imprensa/noticias/2009/produtores-de-pinha-ganham-novo-impulso-em-alagoas>> 2009. Acesso em: 20 de abril 2016.
- ANDRIGUETO, J. R.; KOSOSKI, A. R. Programa de desenvolvimento da fruticultura brasileira e a inserção da produção integrada nos mercados nacional e internacional. In: ZAMBOLIM, L. **Manejo Integrado: produção integrada de fruteiras tropicais: doenças e pragas**. Viçosa: UFV, p. 1-6, 2003.
- AMORIM, L. et al., Doenças das plantas cultivadas. **Manual de fitopatologia**, v.2, 4. ed. Agronômica Ceres, Piracicaba 2011.
- ARAÚJO, J. F. **A cultura da pinha**. Salvador: Egba. 79 p. 2003.
- ARAÚJO, M. Disponível em: <http://www.infoescola.com/plantas/familia_annonaceae/> Acesso em: 15 de agosto 2017.
- AVILA-ADAME et al, Characterization of spontaneous mutants of *Magnaporthe grisea* expressing stable resistance to the Qo-inhibiting fungicide azoxistrobine. *Current Genetics*, v. 69, pgs 130, 2003.
- AZEVEDO, C. P. et al., Recomendações de manejo da antracnose do pimentão e das pimentas. EMBRAPA: **Comunicado Técnico**, Brasília-DF, 2006, ISSN 1414-9850.

BRENT, K. J. **Fungicide resistance in crop pathogens**: how can it be managed Brussels: GIFAP, 1995. 48 p. (FRAC Monograph, n.1).

BRITO, C. H. et al., **Controle Químico de Antracnose Foliar na Cultura do Milho**. XXIX Congresso Nacional de milho e sorgo, Águas de Lindóia, p. 695-698, 26 a 30 de agosto 2012.

BUCHANAN, G. J. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* p. 696-705. 2000

CARDOSO, J.E.; FREIRE, F.C.O. Doenças de fruteiras tropicais exóticas. **Summa Phytopathologica**. Jaguariúna, v. 25, n. 1, 1999, p. 65-70.

CARDOSO, J.E.; FREIRE, F.C.O. Doenças das anonáceas. In: FREIRE, F.C.O. et al.,(Ed.). **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p.145-189.

CERCOBIM- ADAPAR. Disponível em:
<<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Fungicidas/cercobin700wp.pdf>>
Acesso em: 15 de abril 2016.

COLATTO, U. L. D. **Reação de progênies de maracujazeiro azedo à antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), à verrugose (*Cladosporium herbarum*) e à bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2010.

CORDEIRO, M.C.R. O cultivo da pinha, fruta-do-conde ou ata no Brasil. Planaltina: **Embrapa Cerrados**. ISSN 1517-0187. 2000.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro. Serviço de Informação Agrícola, 1931. V.2, p 484-488.

CORREIA, K.C.; MARTINS, R.B.; CÂMARA, M.P.S.; MICHEREFF, S.J. Escala diagramática para avaliação da severidade da antracnose em pinha. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.41, n.1, p.1-4, 2011.

COSTA, J. F. O. Caracterização e epidemiologia comparativa de espécies de *Colletotrichum* em anonáceas no Estado de Alagoas (**Tese de doutorado**). Universidade Federal de Alagoas, Maceió-Al. 110 p. 2014.

COSTA J.F.O et al. First Report of *Colletotrichum fructicola* Causing Anthracnose on *Annona* Leaves in Brazil. **Plant Disease**. 2:101. 2017

CUIDAR. Disponível em: <<http://www.cuidar.com.br/graviola>> Acesso em: 15 de março 2016.

ECKERT, J. W.; OGAWA, J. M. The chemical control of postharvest diseases: subtropical and tropical fruits. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.23, 1985, p. 421-454.

FARR & ROSSMAN, SBML **Systematic Botany of Mycological Resources**. Disponível em: Acesso em: 18 de abril de 2016.

FREIRE, F. das C. O.; CARDOSO, J. E. **Doenças das anonáceas**. In: JOSÉ, A. R.; VILAS BOAS, I.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. (eds.). Anonáceas: produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimóia). Vitória da conquista: Universidade Estadual do Sudeste da Bahia, p. 196-213, 1997.

FERREIRA, F. R. Germoplasma de Anonáceas. In: São José, A.R., et al., **Anonáceas, produção e mercado (Pinha, graviola, atemóia e cherimóia)**. Vitória da Conquista (BA): DFZ/UESB, 1997, p.36-41.

FERRARI, J.T. et al., **Antracnose associada às fruteiras**. 2011. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2011_4/antracnose/index.htm>. Acesso em: 29 setembro, 2014.

FLORES - FLORES, R. F. et al., Identification of Fungal Species Associated with Cladode Spot of Prickly Pear and Their Sensitivity to Chitosan. **Journal of Phytopathology**, v. 161, p. 544-552, 2013.

FOLICUR-ADAPAR. Disponível em : <<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Fungicidas/folicur200ec.pdf>>. Acesso em: 20 de abril de 2017.

GHINI, R.; KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. 1ª edição. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**. 78p. 2000.

GUIMARÃES, G. R. **Diversidade e caracterização morfo-cultural, biológica, bioquímica e molecular de isolados de *Colletotrichum* spp.** Monografia (Especialização)-Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Goiano, Urutaí, 2011.

GHINI, R.; KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

GRENME. Fruta do conde: a fruta da saúde e da juventude. Disponível em: <<https://www.greenme.com.br/usos-beneficios/4048-fruta-do-conde-saude-juventude>> Acesso em: 08 de agosto de 2017.

HERNÁNDEZ, L.V. **La reproducción sexual y multiplicación vegetativa de la annonaceas**. Xalapa: Universidad Veracruzana. 1993, 35p.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário**. Rio de Janeiro, 2009, 777p.

INOUE, K. et al., Cytological evaluation of the effect of azoxystrobin and alternative oxidase inhibitors in *Botrytis cinerea*. **FEMS Microbiol Lett.** p. 83-90, 2012.

IPA. Disponível em: <<http://www.ipa.br/resp21.php>>. Acesso em: 05 de abril 2016.

JUNIOR, R. S. et al., Utilização de azoxistrobina no controle da antracnose da mangueira. **Fitopatologia Brasileira**, p. 193-196. 2004.

JUNQUEIRA, N. T. V. et al., **Graviola pra exportação**: aspectos técnicos da produção. Brasília-DF, EMBRAPA-SPI, 67p., 1996.

JUNQUEIRA, N. T. V. et al., Controle das doenças da gravioleira. In: ZAMBOLIM, L. et al., **Controle de doenças de plantas frutíferas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v.1, p. 405-444, 2002.

JUNQUEIRA, N. T. V. et al., **Frutas Anonáceas**: Ata ou pinha, atemóia, cherimóia e graviola. Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 387-440, 2003.

JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P. **Principais doenças de anonáceas do Brasil: Descrição e Controle**. Palestra Anonáceas - V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação (19 a 23 de agosto de 2013). Botucatu-SP. v. 36, edição especial, e. p. 055-064. 2014.

KIMATI, H. et al., **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Ceres, 1997.

KAVATI, R. O cultivo a atemóia. In: DONADIO, L. C.; MARTINS, A. B. G.; VALENTE, J. P. Ed., **Fruticultura tropical**. Jaboticabal: FUNEP/FCAV/UNESP. P. 39-70. 1992.

KENDALL, S. et al., Characterization of benzimidazole-resistant strains of *Rhynchosporium secalis*. Pesticide Science, v.40, p.175-181, 1994

KOSOSKI, R.M.et al., Efeito de fungicidas em *Colletotrichum acutatum* e controle da antracnose do morangueiro. **Fitopatologia Brasileira**. v. 26, p. 662-666, 2001.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. **Potencial inseticida de plantas da família annonaceae**. V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação, v. 36, p. 225-242, 2014.

LEMOS, E. E. P. et al., Produção de porta-enxertos em tubetes e enxertia precoce de pinheira (*Annona squamosa*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 32, n. 3, setembro 2010, p. 865-873. 2010.

LEMOS, E. E.P. **A produção de anonáceas no Brasil**. v.36, In: Palestra anonáceas – V Congresso Internacional e Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene a exportação. Botucatu-SP. v.36, edição especial, e., janeiro 2014, p 77-85. 2014.

LÉON, J. **Botanica de los cultivos tropicales**. San José. IICA. 1987, p 425-431.

LIMA, M. A. C. de. O cultivo da gravioleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n. 3, 2004.

LOPEZ, A. M. Q. **Doenças de anonáceas e do urucuzeiro**. In: KIMATI, H. et al., Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Ceres, p. 78-84, 1997.

LOPEZ, A. M. Q. **Doenças das anonáceas e do urucuzeiro**. p. 73-77. In: KIATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (eds.), Manual de Fitopatologia. v.2, Doenças das plantas cultivadas, 4ª ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 663p., 2005.

MANICA, I. Taxonomia ou sistemática, morfologia e anatomia. In: MANICA, I. **Fruticultura: cultivo das anonáceas**. Porto Alegre: EVANGRAF. 1994, p. 3-11.

MANICA, I. et al., **Frutas Anonáceas (ata ou pinha, atemóia, cherimóia e graviola)**. Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. Cinco Continentes Editora, 2003, 596p.

MANICA, I. **Taxonomia, morfologia e anatomia**. In: JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B., MORAIS, O. M., REBOUÇAS, T. N. H. Anonáceas: produção e mercado. Vitória da Conquista: UESB, p. 20-35. 1997.

MAPA. Relatório de produtos formulados. Disponível em: <http://bi.agricultura.gov.br/reports/rwservlet?agrofit_cons&produtos.rdf&p_id_produto_formulado_tecnico=9211&p_origem_report=WEB¶mform=no> Acesso em: 14/05/2017.

MCKINNEY, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, n.5, p.195-218, 1923

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v.3, 2006, p.170-179.

MOSCA, J. L.; CAVALCANTE, C. E. B.; DANTAS, T. M. Características botânicas das principais anonáceas e aspectos fisiológicos da maturação. Embrapa Agroindústria tropical. Forataleza-CE, 2006. ISSN 1677- 19215.

OLIVEIRA, S. M. A. et al., **Patologia pós – colheita**. Frutas, Olerícolas e Ornamentais tropicais. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília-DF, p. 855, 2006.

OXIQUIMICA. Disponível em: <http://www.oxiquimica.ind.br/arquivos/produtos.aspx?hl=1&id=1> Acesso em: 23/06/2017.

PARREIRA, D.F. et al., Resistência de fungos a fungicidas inibidores de quinona. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, São Luís, v.3, n.2, p.24-34, 2009.

PINTO, A. C. Q., SILVA, E. M. Graviola para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA-SPI, (**Série Publicações Técnicas FRUPEX; 7**). 41p, 1994.

PUTZKE, J., PUTZKE, M. T. L. **Os Reinos dos Fungos**. 2. ed. Santa Cruz do Sul: Edunisc. 491 p. 2002.

RAMOS, V. H. V. et al., Graviola: produção: aspectos técnicos. Brasília: **EMBRAPA Informação Tecnológica**, p. 9, 2001.

REIS, E.M. Considerações sobre a aplicação de fungicidas baseadas no estágio fenológico da planta. Disponível em: <http://www.cultivares.com.br/noticias/index.php?c=8186> Acesso em: 15/07/2017.

REIS, E. M.; BRESÓLIS, A. C. R. **Fungicidas: aspectos gerais**. Revista Plantio Direto, edição 97, Aldeia Norte Editora, Passo Fundo, RS. janeiro/fevereiro 2007.

ROBERTS, P. D.; PERNEZNY, K. L.; KUCHARÉK, T. A. **Anthracnose on pepper in Florida**. Electronic Data Information Source - Florida Cooperative Extension Publications: Universidade da Flórida, Gainesville, 2012.

SÃO JOSÉ, A.R. Aspectos generales de las anonáceas em Brasil. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ANONÁCEAS, 1. Chapingo. Memórias... Chapingo: Universidad Autónoma Chapingo, p. 92-103, 1997.

SCORE-ADAPAR. Disponível em:
<<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Fungicidas/score.pdf>> Acesso em: 15 de abril 2016.

SILVA, A. Quem é quem na família das Anonáceas. **Pesquisa e Tecnologia**. V.4, n.1. ISSN 2316-5146. 2007.

SILVA, D.N. et al., Application of the *Apn2/MAT* locus to improve the systematics of the *Colletotrichum gloeosporioides* complex: an example from coffee (*Coffea* spp.) hosts. **Mycologia**. v.104, p. 396-409. 2012.

SILVA et al., Prospecção científica de espécies do gênero *annonna* (annonaceae) com atividade antinociceptiva e anti-inflamatória. **Revista Geintec, Innovation, Technology and Management Journal**. v.5.n.3. ISSN:2237-0722. 2015.

SOBRINHO, R. B. Potencial de exploração de anonáceas no Nordeste do Brasil. In: Semana da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria, 17. 2010, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2010.

SYNGENTA. Disponível em:
<http://www3.syngenta.com/country/eg/en/cropprtection/ourproducts/fungicides/Pages/Score250EC.aspx> Acesso em: 15 de abril 2016.

TAVARES, G. M., SOUZA, P. E. de. Efeito de fungicidas no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotécnica**. Lavras, v. 29, n. 1, p. 52-59, jan/fev. 2005.

THOMAZELLA, P.P. et al., The hemibiotrophic 31WW31S pathogen *Moniliophthora perniciosa* depends on a mitochondrial alternative oxidase for biotrophic development. **New Phytol.** 1941025-1034. 10.1111/J.1469-8137. 2012. 04119x. Em março de 2012.

TORRES-CALZADA, C. et al., Sensitivity of *Colletotrichum truncatum* to four fungicides and characterization of thiabendazole-resistant isolates. *Plant disease* 99: 1590-1595. 2015.

VANLERBERGHE, G.C.; MCINTOSH, L. Alternative oxidase: from gene to function. **Annual review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. V.38, p.703-734, 1997.

VILASBOAS, F. S. Polinização e Proteção de frutos de gravioleira no estado da Bahia. **(Dissertação de mestrado)**, Vitória da Conquista, 2012, 63 pg.

VILLANUEVA-ARCE, R. et al., Caracterización e identificación de *Colletotrichum fragariae* en frutos de chirimoya. **Agrociência**. v.39, p. 93-106, 2005.

WHEELER, I.E. et al., Using allele-specific oligonucleotide probes to characterize benzimidazole resistance in *Rhynchosporium secalis*. *Pesticide Science*, v.43, p.201-209.

3. SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* A FUNGICIDAS

RESUMO

A antracnose, causada por espécies do gênero *Colletotrichum* é a doença mais frequente em anonáceas e a principalmente em pinha (*Annona squamosa*) e graviola (*Annona muricata*). Embora não existam fungicidas registrados para estas culturas, tem sido verificado o uso destes, no manejo da antracnose, especialmente, do grupo das estrobilurinas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade *in vitro* de cinco espécies de *Colletotrichum* a cinco fungicidas de diferentes princípios ativo e as misturas de azoxistrobina + difenoconazole e azoxistrobina + SHAM, bem como avaliar a germinação de esporos das espécies de *Colletotrichum*. Os isolados foram cultivados em meio BDA sintético contendo os fungicidas azoxistrobina, difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico, oxicloreto de cobre e azoxistrobina + difenoconazole nas concentrações de 0; 0.1; 0.5; 1; 5 e 10 μg de i.a. ml^{-1} e azoxistrobina (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) + SHAM, incubados em BOD a 25 °C no escuro. Foi avaliado o cálculo da ED₅₀ (concentração de ingrediente ativo capaz de inibir 50% do crescimento micelial) e a concentração mínima inibitória (CMI). As avaliações foram realizadas durante 7 dias, através do diâmetro da colônia. O índice de crescimento micelial (ICM) foi submetido à análise de variância (ANOVA). As avaliações foram realizadas durante sete dias mediante mensuração do crescimento micelial. O teste de inibição da germinação de conídios foi realizado com a diluição dos fungicidas em água destilada esterilizada (ADE), obtendo-se as concentrações de 0,1; 0,5; 1; 5; 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ dos fungicidas e concentração conidial de $2 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$. Os fungicidas difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico e azoxistrobina + difenoconazole apresentaram melhores desempenho no controle *in vitro*, com valores da ED₅₀ entre 0,1 a 0,75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ e inibição na germinação dos conídios das espécies de *Colletotrichu*, já o oxicloreto de cobre não conseguiu controlar satisfatoriamente. O fungicida azoxistrobina associado ao ácido salicilhidroxâmico (SHAM) inibiu totalmente o crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum*.

Palavras chave: Antracnose; *Annona squamosa*; Controle Químico.

ABSTRAT

Anthrachnose caused by species of the genus *Colletotrichum* is the most frequent disease in annonaceae and the main one in pine cone (*Annona squamosa*) and graviola (*Annona muricata*). Although there are no fungicides registered for these crops, their use has been verified in the management of anthracnose, especially the strobirulin group. The objective of this work was to evaluate the in vitro sensitivity of five species of *Colletotrichum* to five fungicides of different active principles and the mixtures of azoxystrobin + difenoconazole and azoxystrobin + SHAM, as well as to evaluate the spore germination of *Colletotrichum* species. The isolates were cultivated in synthetic BDA medium containing the fungicides azoxystrobin, difenoconazole, tebuconazole, methyl thiophanate, copper oxychloride and azoxystrobin + diphenconazole at concentrations of 0; 0,1; 0,5; 1; 5 and 10 μg of a.i. ml^{-1} and azoxystrobin (10 μg / ml) + SHAM, incubated in BOD at 25 °C in the dark. The ED₅₀ (active ingredient concentration capable of inhibiting 50% of mycelial growth) and minimum inhibitory concentration (MIC) was evaluated. Evaluations were performed for 7 days, through the colony diameter. The mycelial growth index (ICM) was submitted to analysis of variance (ANOVA). The evaluations were carried out for seven days by measuring mycelial growth. The inhibition test of conidia germination was carried out with the dilution of fungicides in sterile distilled water (ADE), obtaining concentrations of 0,1; 0,5; 1; 5; 10 μg ml^{-1} of the fungicides and conidial concentration of 2×10^6 ml^{-1} . The fungicides difenoconazole, tebuconazole, methyl thiophanate and azoxystrobin + diphenconazole showed better performance in the in vitro control, with ED₅₀ values between 0,1 and 0,75 μg / ml and inhibition on the germination of the conidia of *Colletotrichum* species, copper oxychloride was not satisfactorily controlled. The fungicide azoxystrobin associated with salicylhydroxamic acid (SHAM) totally inhibited the mycelial growth of *Colletotrichum* species.

Keywords: Anthracnose; *Annona squamosa*; Chemical Control.

3.1 INTRODUÇÃO

No manejo de doenças o controle químico é o método mais utilizado para diversos problemas fitossanitários dentre eles a antracnose, prevenindo e controlando o seu desenvolvimento. Os fungicidas apresentam resultados rápidos, facilidade na aplicação, por isso sua utilização esta cada vez mais difundida, sendo considerado de grande importância na proteção de cultivos agrícolas, evitando danos ocasionados por diversos fitopatógenos. Sem a utilização dos fungicidas, poderia ocorrer uma redução de mais de 7,3% (estimativa mundial) na produção vegetal (MENTEN, BANZATO, 2016).

Os fungicidas geralmente são classificados pela natureza química e pelo seu modo de ação, podendo ser protetores, curativos, sistêmicos e mesostêmicos (KIMATI, 2011). Os fungicidas protetores são considerados efetivos quando aplicados antes da penetração do patógeno no tecido do hospedeiro, formando uma barreira que impede a sua penetração, inibindo a germinação dos esporos. Fungicidas sistêmicos são absorvidos pela planta e translocados para outras partes inibindo a proliferação do patógeno (BARRETO, 2014). Já os fungicidas mesostêmicos são aqueles que se movem a curta distância na folha, penetrando somente na cutícula permanecendo nela (SANTI, 2014).

Alguns métodos convencionais são utilizados para o monitoramento da resistência, visando avaliar o nível de sensibilidade micelial de espécies fúngicas em relação a fungicidas, podendo ser quantificados por curvas de dose-resposta com diferentes concentrações de fungicidas, estimando a concentração capaz de inibir 50% do crescimento micelial ou germinação de esporos (EC_{50}), e a concentração mínima inibitória (CMI) que avalia a inibição de 100% do crescimento dos isolados sensíveis separando dos resistentes (ANGELINE et al., 2015; LINCHTEMBERG et al., 2016). Os parâmetros da EC_{50} e CMI podem ser avaliados pelo diâmetro da colônia e germinação dos esporos, isso irá depender do modo de ação dos fungicidas utilizados.

Os fungicidas do grupo das estrobirulinas, benzimidazóis e triázóis são bastante utilizados na agricultura. O uso desses grupos de fungicidas tem sido aumentado pela eficiência no controle de diversas doenças que ocasionam manchas foliares, como antracnose, míldios, oídios e ferrugens (BALARDIN, 2002; VENÂNCIO et al., 2004; FAGAN 2007). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade *in vitro* de cinco espécies de *Colletotrichum* a cinco fungicidas de diferentes princípios ativos e as misturas de

azoxistrobina + difenoconazole e azoxistrobina + SHAM, bem como avaliar a germinação de esporos das espécies de *Colletotrichum*.

3.2 METODOLOGIA

3.2.1 Local do Experimento

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e Virologia Molecular do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), localizado no município de Rio Largo-AL.

3.2.2 Obtenção dos isolados fúngicos

Os isolados de *Colletotrichum* provenientes de pinha e graviola foram obtidos da Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos da Universidade Federal de Alagoas (COUFAL).

Os isolados utilizados nos experimentos foram caracterizados por inferência Bayseana baseados nas análises multilocus da região do espaço interno transcrito (ITS) e nas sequências parciais dos gene gliceraldeido-3-fosfato-desidrogenase (GAPDH), chitinsynthase (CHS), β – tubulina (TUB2) (COSTA, 2014) (Tabela 1).

Foi realizado um pré-teste no Laboratório de Fitopatologia e Virologia Molecular do Centro de Ciências Agrárias (CECA) para escolha dos isolados de cada espécie de *Colletotrichum* que apresentaram melhor crescimento micelial.

Tabela.1 - Isolados de *Colletotrichum* provenientes de pinha e graviola em Alagoas.

Identificação	Espécie	Município
G1A	<i>Colletotrichum theobromicola</i>	Arapiraca-AL
P16P	<i>C. fructicola</i>	Palmeira dos Índios-AL
G5M	<i>C. tropicale</i>	Maceió-AL
P7M	<i>C. siamense</i>	Maceió-AL
P5M	<i>C. karstii</i>	Maceió-AL

3.2.3 Avaliação da sensibilidade micelial das espécies de *Colletotrichum* a fungicidas

A sensibilidade das espécies de *Colletotrichum* a fungicidas foi determinada utilizando as formulações comerciais da tabela 2 e uma mistura do fungicida azoxistrobina + difenoconazole:

Tabela. 2 - Fungicidas utilizados e demais grupos químicos.

Ingrediente Ativo	Nome comercial	Grupo químico	Tipo	CIA¹
Azoxistrobina	Amistar	Estrobirulina	Sistêmico	500g/Kg ⁻¹
Difenoconazole	Score	Triazol	Sistêmico	250g/L ⁻¹
Tebuconazole	Folicur	Triazol	Sistêmico	200g/L ⁻¹
Tiofanato metílico	Cercobin	Benzimidazol	Sistêmico	700g Kg ⁻¹
Oxicloreto de Cobre	Recop	Inorgânico	Protetor	840g/Kg ⁻¹

¹Concentração do ingrediente ativo

Os fungicidas azoxistrobina, difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico, oxicloreto de cobre e a mistura de azoxistrobina + difenoconazole foram dissolvidos no solvente dimetilsulfóxido (DMSO) e adicionados ao meio de cultura de batata dextrose (BDA) fundente (45°C), para alcançar as concentrações de 0.1 µg de i.a. ml⁻¹; 0.5 µg de i.a. ml⁻¹, 1 µg de i.a. ml⁻¹; 5 µg de i.a. ml⁻¹ e 10 µg de i.a. ml⁻¹. Em todas as concentrações, incluindo a testemunha, a concentração final do DMSO no meio de cultura foi de 0.1% (v/v). Discos de micélio (5 mm diâmetro) de cada isolado foram removidos da margem de colônia com 7 dias de crescimento em meio BDA e depositados em meio BDA sintético suplementado com os fungicidas. Para testemunha, foi utilizado placas de Petri contendo meio de cultura BDA sintético suplementado com DMSO onde foram depositados discos de micélio do patógeno.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 150 tratamentos em arranjo fatorial triplo, com cinco placas (repetições) por combinação de 5 espécies de *Colletotrichum* x 6 fungicidas x 5 concentrações e cinco repetições por tratamento. As avaliações foram realizadas através do crescimento micelial em dois sentidos, perpendicularmente, durante 7 dias. As placas foram incubadas em estufa Biochemistry Oxygen Demand (BOD) a 25 °C no escuro. O índice de crescimento micelial (ICM) foi

calculado e os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ($p < 0,05$) e, quando significativos, a análise de regressão. O ICM foi determinado pela fórmula $ICM = [(C1/N1) + (C2/N2) + \dots + (Cn/Nn)]$, sendo: ICM = índice de crescimento micelial; C1, C2, Cn = crescimento micelial do fungo na primeira, segunda e última avaliação; N1, N2, Nn = número de dias após a inoculação.

Além disso, foi calculado a ED₅₀ (concentração de ingredientes ativos capazes de inibir 50% do crescimento micelial) e a concentração mínima inibitória (CMI), ou seja, intervalo entre concentrações dos fungicidas capazes de inibir totalmente o crescimento micelial do fungo, dada pela fórmula: % inibição = $\{[(\text{cresc. Da testemunha} - \text{cresc. do tratamento}) / \text{cresc. Testemunha}] \times 100\}$. Após o cálculo da ED₅₀, as espécies de *Colletotrichum* foram classificadas em quatro categorias de sensibilidade, de acordo com a escala de Edgington et al., (1971), em que: ED₅₀: $< 10 \mu\text{g ml}^{-1}$: alta sensibilidade (AS); ED₅₀: $10-100 \mu\text{g ml}^{-1}$: moderada sensibilidade (MS); ED₅₀: $100-500 \mu\text{g ml}^{-1}$: insensibilidade (I).

3.2.4 Avaliação da sensibilidade das espécies de *Colletotrichum* ao Ácido Salicilhidroxâmico (SHAM)

O teste de sensibilidade *in vitro* das espécies de *Colletotrichum* à azoxistrobina (Amistar 500 WG, 500 g kg⁻¹ i.a. Syngenta, São Paulo, SP, Brasil) com e sem a presença do ácido salicilhidroxâmico (SHAM), foi avaliado da seguinte forma: o fungicida foi dissolvido em DMSO para alcançar a concentração de 10 μg de i.a. ml⁻¹ e o SHAM foi dissolvido em DMSO para atingir uma concentração final de 100 μg i.a. ml⁻¹, ambos foram adicionados ao meio BDA fundente (45°C). Em todas as concentrações, incluindo a testemunha, a concentração final do DMSO no meio de cultura foi de 0.1% (v/v).

Discos de micélio (5 mm diâmetro) de cada isolado foram removidos da margem das colônias com 7 dias de crescimento em meio BDA e depositados em meio BDA sintético suplementado com fungicida e o SHAM. Para as testemunhas foram utilizadas placas de Petri contendo meio de cultura BDA sintético suplementado com DMSO onde foram depositados discos do patógeno.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com 10 tratamentos representados por 5 espécies de *Colletotrichum*, 1 concentração de fungicida e 1 concentração de fungicida + SHAM. As avaliações foram realizadas através do crescimento micelial em dois sentidos, perpendicularmente, durante 7 dias. As placas foram incubadas em estufa BOD a 25° C no escuro.

3.2.5 Efeito dos fungicidas sobre a germinação de conídios das diferentes espécies de *Colletotrichum*

Para avaliação da inibição de germinação dos esporos, foi realizado um pré-teste com as espécies de *Colletotrichum*, e foi possível observar que após 5 horas ocorreu a emissão do tubo germinativo.

Foram utilizados os mesmos isolados das espécies de *Colletotrichum* que foram cultivados em meio BDA por 7 dias. Obteve-se uma suspensão de conídios mediante a deposição de 10 ml de água destilada esterilizada, acrescida de Tween 20 (1 gota/10 ml de água) sobre a superfície da placa de Petri com micélio fúngico, seguido de raspagem das colônias com alça de Drigalski. Em seguida, foi feita a separação do micélio fúngico dos conídios em camada dupla de gaze esterilizada.

A concentração conidial foi ajustada para 2×10^6 ml⁻¹ esporos em câmara de contagem de Neubauer. O teste de inibição foi realizado em lâminas escavadas com a diluição dos fungicidas em água destilada esterilizada (ADE), obtendo-se as concentrações de 0,1; 0,5; 1; 5; 10 µg ml⁻¹ dos fungicidas. Com a junção da concentração dos fungicidas e a concentração conidial obteve-se uma suspensão conidial final de 1×10^3 ml⁻¹ conídios.

As lâminas escavadas foram colocadas sobre um suporte dentro das placas de Petri contendo, em seu interior, duas folhas de papel filtro previamente umedecidas com água destilada esterilizada e, mantidas em condições de câmara úmida e temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1$, no escuro. Após as 5 horas de incubação, foi adicionado ácido láctico com o objetivo de inibir a germinação dos esporos após esse período. Foram considerados conídios germinados aqueles que apresentarem tubo germinativo com comprimento de, no mínimo, uma vez o tamanho do conídio.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 150 tratamentos em arranjo fatorial (5 espécies x 5 concentrações x 6 fungicidas) com quatro repetições, onde foram contados 100 conídios por cavidade obtida a porcentagem de conídios germinados.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Avaliação da sensibilidade micelial das espécies de *Colletotrichum* a fungicidas

Os resultados referentes ao crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum* sobre os efeitos das diferentes concentrações de fungicidas, encontram-se nas tabelas de 3 a 7.

Observaram-se diferenças significativas entre os fungicidas nas concentrações testadas. Para a espécie *C. theobromicola*, os fungicidas difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico e azoxistrobina + difenoconazole nas concentrações 1, 5 e 10 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ apresentaram os melhores resultados de inibição do crescimento micelial nas três concentrações. Os fungicidas difenoconazole, tebuconazole e tiofanato metílico apresentaram os melhores resultados na concentração de 10 $\mu\text{g/ml}^{-1}$. Não foi possível o controle do patógeno nas concentrações testadas quando utilizou oxiclureto de cobre comparado com a testemunha (Tabela 3). Santos, (2006) avaliando a sensibilidade micelial de *Didymella bryoniae* em melancia, observou que os isolados do estudo apresentaram resistência ao tiofanato metílico em todas as doses testadas. Entretanto, utilizando o fungicida oxiclureto de cobre, houve a inibição completa do crescimento dos isolados, demonstrando alta sensibilidade do patógeno ao ingrediente ativo.

Tabela. 3 – Efeito de fungicidas em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial da espécie *Colletotrichum theobromicola*.

Fungicida	(Concentrações $\mu\text{g/ml}^{-1}$)					
	0,0	0,1	0,5	1	5	10
Azoxistrobina	1,11Ac	0,83Bb	0,78Ba	0,77Ba	0,75Ba	0,72Ca
Difenoconazole	1,25Aa	0,58Aa	0,37Aa	0,33Ab	0,12Aa	0,07Aa
Tebuconazole	1,07Ac	0,75Bb	0,31Aa	0,17Aa	0,07Aa	0,07Aa
Tiofanato metílico	1,25Ad	1,09Cc	1,06Cc	0,88BCb	0,07Aa	0,07Aa
Oxiclureto de cobre	1,25Ab	1,09Ca	1,04Ca	1,01Ca	1,07Ca	1,10Ca
Azox+Difeno	1,25Ac	0,56Ab	0,39Aa	0,39Aa	0,25Aa	0,44Ab

DMS = 0,23 CV% 18,92

Médias com letra maiúsculas na coluna e minúsculas nas linhas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

C. fructicola apresentou menor crescimento micelial nas concentrações de 5 e 10 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ para os fungicidas azoxistrobina, difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico e

azoxistrobina + difenoconazole. Oxicloreto de cobre não apresentou diferença entre as concentrações testadas e a testemunha (Tabela 4).

Tabela. 4 – Efeito de fungicidas em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial da espécie *Colletotrichum fructicola*.

Fungicida	(Concentrações $\mu\text{g/ml}^{-1}$)					
	0,0	0,1	0,5	1	5	10
Azoxistrobina	1,25Ab	0,85Aa	0,85Ca	0,77Ca	0,78Da	0,78Da
Difenoconazole	1,25Ad	0,89Ac	0,32Ab	0,31Ab	0,29Bb	0,17Ba
Tebuconazole	1,25Af	1,07Be	0,69Bd	0,54Cc	0,26Bb	0,07Aa
Tiofanato metílico	1,25Ad	1,44De	0,94Cc	0,31Ab	0,07Aa	0,07Aa
Oxicloreto de cobre	1,25Aa	1,24Ca	1,24Da	1,24Da	1,25Da	1,24Ea
Azox+Difeno	1,25Ad	0,87Ac	0,49Ab	0,48Bb	0,36Ca	0,30Ca

DMS = 0,08 CV% 5,56

Médias com letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

Para a espécie *C. tropicale*, o fungicida azoxistrobina não apresentou diferença significativa entre as concentrações testadas. No entanto, difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico e azoxistrobina + difenoconazole nas maiores concentrações 5 e 10 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, inibiram o crescimento micelial do patógeno (Tabela 5). Oxicloreto de cobre não apresentou diferença entre as concentrações testadas em relação à testemunha para o patógeno em estudo.

Tabela. 5 – Efeito de fungicidas em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial da espécie *Colletotrichum tropicale*.

Fungicida	(Concentrações $\mu\text{g/ml}^{-1}$)					
	0,0	0,1	0,5	1	5	10
Azoxistrobina	1,07Ab	0,97Ba	0,91Ba	0,96Ca	0,92Ba	0,89Ba
Difenoconazole	1,07Ae	0,68Ad	0,54Ac	0,44Ac	0,21Ab	0,07Aa
Tebuconazole	1,07Ad	0,94Bc	0,47Ab	0,45Ab	0,23Aa	0,17Aa
Tiofanato metílico	1,07Ad	1,14Cd	0,88Bc	0,61Bb	0,20Aa	0,13Aa
Oxicloreto de cobre	1,07Aa	1,04Ca	1,02Ca	1,04Ca	1,06Ca	1,05Ca
Azox+Difeno	1,07Ad	0,76Ac	0,48Ab	0,49Ab	0,30Aa	0,21Aa

DMS = 0,10 CV%7,66

Médias com letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

O fungicida azoxistrobina nas concentrações 0,5, 5 e 10 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ inibiu o crescimento micelial de *C. siamense*. Porém, difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico e azoxistrobina + difenoconazole conseguiram controlar a espécie nas concentrações de 5 e 10 $\mu\text{g/ml}^{-1}$. Oxiclóreto de cobre não apresentou diferença significativa entre as concentrações utilizadas (Tabela 6).

Tabela. 6 - Efeito de fungicidas em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial da espécie *Colletotrichum siamense*.

Fungicida	(Concentrações $\mu\text{g/ml}^{-1}$)					
	0,0	0,1	0,5	1	5	10
Azoxistrobina	1,25Ac	1,00Bb	0,96Ba	1,03Cb	0,96Ca	0,89Ca
Difenoconazole	1,25Ae	0,72Ad	0,50Ac	0,44Ac	0,21Ba	0,07Aa
Tebuconazole	1,25Ae	1,09Be	0,67Ad	0,57Ac	0,27Bb	0,07Aa
Tiofanato metílico	1,25Ad	1,22Cd	1,05Cc	0,82Bb	0,07Aa	0,07Aa
Oxiclóreto de cobre	1,25Aa	1,22Ca	1,23Ca	1,22Da	1,23Da	1,26Da
Azox+Difeno	1,25Ad	0,82Ac	0,53Ab	0,54Ab	0,36Ba	0,30Ba

DMS = 0,17 CV% 12,10

Médias com letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

Para a espécie *C. karsti*, azoxistrobina inibiu totalmente o crescimento micelial em todas as concentrações testadas. Porém, as concentrações de 1, 5 e 10 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ referentes aos fungicidas difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico e azoxistrobina + difenoconazole impediu o crescimento da espécie, e nas concentrações de 5 e 10 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, apresentaram melhores resultados em relação as demais concentrações. Todos os fungicidas utilizados no controle de *C. karstii* foram eficientes inibidores do crescimento micelial *in vitro* (Tabela 7). Tavares e Souza (2005) em testes *in vitro* com tebuconazole, observaram a inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em plantas de citros da variedade Natal. Em outros trabalhos também foi comprovada a eficiência dos fungicidas do grupo dos triázóis e benzimidazóis na inibição do crescimento micelial de espécies de *Colletotrichum in vitro* (FREEMAN et al., 1997).

Tabela. 7– Efeito de fungicidas em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial da espécie *Colletotrichum karstii*.

Fungicida	(Concentrações $\mu\text{g/ml}^{-1}$)					
	0,0	0,1	0,5	1	5	10
Azoxistrobina	0,79Ab	0,07Aa	0,07Aa	0,07Aa	0,07Aa	0,07Aa
Difenoconazole	0,79Ad	0,36Bc	0,23Bb	0,21Bb	0,16Aa	0,09Aa
Tebuconazole	0,79Ad	0,36Bc	0,19Bb	0,16Ba	0,07Aa	0,07Aa
Tiofanato metílico	0,79Ad	0,37Bc	0,23Bb	0,07Aa	0,07Aa	0,07Aa
Oxicloreto de cobre	0,79Ab	0,79Cb	0,66Ca	0,66Ca	0,62Ba	0,68Ca
Azox+Difeno	0,79Ac	0,34Bb	0,21Ba	0,19Ba	0,14Aa	0,18Ba

DMS = 0,09 CV%15,55

Médias com letra maiúsculas na coluna e minúsculas nas linhas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

Em relação a ED_{50} (concentração de ingredientes ativos capazes de inibir 50% do crescimento micelial), a espécie *C. theobromicola* foi altamente sensível aos fungicidas azoxistrobina + difenoconazole, difenoconazole, tebuconazole e tiofanato metílico (Tabela 8), variando de 0,1006 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, 0,1158 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, 1,1661 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ e 1,6332 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, respectivamente. Enquanto os fungicidas azoxistrobina e oxicloreto de cobre foram considerados ineficazes (valores acima de 10 $\mu\text{g/ml}^{-1}$). Em *Corynespora cassicola* os valores da ED_{50} variaram de 0,50 a 18,79 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ para o fungicida tebuconazole em diferentes isolados, corroborando com os resultados encontrados em *C. theobromicola* (AGUIAR, 2015).

A ED_{50} variou em 0,2104 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, 0,3987 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, 0,6702 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ e 0,7506 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ para os fungicidas difenoconazole, azoxistrobina + difenoconazole, tiofanato metílico e tebuconazole, respectivamente, onde a espécie *C. fructicola* apresentou alta sensibilidade aos fungicidas. A ED_{50} para os fungicidas difenoconazole, azoxistrobina + difenoconazole, tebuconazole e tiofanato metílico variou de 0,3977 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, 0,5563 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, 0,6985 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ e 1,5329 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, respectivamente, quando o patógeno era *C. tropicale*, sendo considerada altamente sensível. Azoxistrobina e oxicloreto de cobre não foram eficientes nas concentrações testadas para essa espécie. Para a espécie *C. siamense* os valores da ED_{50} nos fungicidas difenoconazole, azoxistrobina + difenoconazole, tebuconazole e tiofanato metílico variou de 0,1883 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, 0,3757 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, 0,7464 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ e 1,2483 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ respectivamente, sendo a espécie altamente sensível aos fungicidas. Para os fungicidas azoxistrobina e oxicloreto de cobre os valores da ED_{50} foram maiores que 10 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, considerados ineficientes no controle de *C. siamense* para as concentrações testadas.

Para *C. karstii* os valores da ED₅₀ em azoxistrobina, tebuconazole, tiofanato metílico, tebuconazole e azoxistrobina + difenoconazole, variou de 0,0000 µg/ml⁻¹, 0,0344 µg/ml⁻¹, 0,0353 µg/ml⁻¹, 0,0366 µg/ml⁻¹ e 0,0072 µg/ml⁻¹ respectivamente, sendo altamente sensíveis a espécie nas concentrações testadas. O fungicida oxiclureto de cobre não foi considerado eficiente no controle, pois apresentou valores acima de 10µg/ml⁻¹ (Tabela 8). Resultados semelhantes de Gang et al.,(2015) em isolados de *C. gloeosporioides* utilizando os fungicidas tiofanato metílico e tebuconazole, observou que a ED₅₀ variou de 3,3 µg/ml⁻¹ e 2,2 µg/ml⁻¹ respectivamente, apresentando média sensibilidade micelial aos fungicidas e CMI maior que 1 µg/ml⁻¹, inibindo de forma efetiva o crescimento do patógeno *in vitro*.

Tabela. 8 – ED₅₀ (concentração de ingredientes ativos capazes de inibir 50% do crescimento micelial) de diferentes espécies de *Colletotrichum* aos fungicidas.

Fungicidas ED ₅₀ (µg/ml ⁻¹)*	Espécies					Sensibilidade das espécies**
	<i>C. theobromicola</i>	<i>C. fructicola</i>	<i>C. tropicale</i>	<i>C. siamense</i>	<i>C. Karstii</i>	
Azoxistrobina	-	-	-	-	0,0000	IS/AS
Difenoconazole	0,1158	0,2104	0,3977	0,1883	0,0366	AS
Tebuconazole	1,1662	0,7506	0,6985	0,7464	0,0353	AS
Tiof. Metílico	1,6332	0,6702	1,5339	1,2483	0,0344	AS
Oxi. de cobre	-	-	-	-	-	IS
Azox e difen	0,1006	0,3987	0,5563	0,3757	0,0072	AS

*ED₅₀= Concentração que inibe 50% do crescimento micelial.**Classificação em função da ED₅₀, onde: ED₅₀<10µg/ml: alta sensibilidade (AS); ED₅₀10-100µg/ml moderada sensibilidade (MS); ED₅₀100-500µg/ml insensibilidade (IS).

O ICM (índice de crescimento micelial) e CMI (concentração mínima inibitória) variaram de 62,32% para concentrações menores que 1µg/ml⁻¹ quando utilizou o fungicida difenoconazole, enquanto que a 10 µg/ml⁻¹ houve inibição de 92,67%. O fungicida tebuconazole apresentou inibição micelial de 68,27% para concentrações menores que 1µg/ml⁻¹. Em tebuconazole e tiofanato metílico o efeito inibitório foi de 92,91% sendo seu CMI maior que 1µg/ml⁻¹. Azoxistrobina+difenoconazole proporcionou o menor índice de crescimento micelial para *C. theobromicola*, apresentando o CMI menor, e a ED₅₀ menor que 1µg/ml⁻¹(Tabela 9).

Tabela. 9 – Valores médios de porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. theobromicola* e a concentração mínima inibitória (CMI)¹.

Fungicidas	Concentrações µg ml ⁻¹					CMI
	0,1	0,5	1	5	10	
Azoxistrobina	18,41%	20,96%	21,52%	24,22%	27,19%	>10
Difenoconazole	30,73%	62,32%	67,42%	87,67%	92,67%	<1
Tebuconazole	25,77%	68,27%	81,86%	92,91%	92,91%	<1
Tiofanato metílico	-7,50%	-7,71%	10,05%	92,91%	92,91%	>1
Oxicloreto de cobre	-7,50%	-5,09%	-3,01%	-7,93%	-11,33%	>10
Azox+Difeno	44,19%	60,48%	60,62%	73,79%	84,41%	<1

¹Intervalo entre as concentrações, em que podem-se encontrar valores de 100% de inibição de crescimento micelial

O valor do CMI em azoxistrobina e oxicloreto de cobre foi maior que 10µg/ml⁻¹, já para difenoconazole foi menor que 1µg/ml⁻¹ com efeito inibitório de 70,82%. Para tebuconazole o CMI foi a 1µg/ml⁻¹ com inibição de 51,15%, e em 10µg/ml⁻¹ o efeito inibitório do fungicida foi de 93,57%, conseguindo inibir o crescimento total do fungo. Em tiofanato metílico o CMI também foi a 1 µg/ml⁻¹, sendo a inibição maior que em tebuconazole, apresentando valor de 71,72%. O CMI de *C. fructicola* nos fungicidas azoxistrobina e oxicloreto de cobre o CMI teria que ser maior de 10µg/ml⁻¹ para o controle. Difenoconazole e azoxistrobina + difenoconazole foram os fungicidas que proporcionaram o menor índice de crescimento micelial, apresentando o CMI menor, e a ED₅₀ menor que 1µg/ml⁻¹ (Tabela 10).

Tabela. 10 – Valores médios de porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. fructicola* e a concentração mínima inibitória (CMI)¹.

Fungicidas	Concentrações µg ml ⁻¹					CMI
	0,1	0,5	1	5	10	
Azoxistrobina	23,00%	23,26%	30,07%	29,56%	29,56%	>10
Difenoconazole	17,86%	70,82%	71,46%	73,52%	84,19%	<1
Tebuconazole	2,95%	37,27%	51,15%	74,93%	93,57%	1-10
Tiofanato metílico	1,79%	15,42%	71,72%	93,57%	93,57%	1-10
Oxicloreto de cobre	-11,95%	-12,46%	-11,69%	-12,85%	-10,53%	>10
Azoxi+Difeno	20,95%	55,01%	56,81%	67,09%	72,23%	<1

¹Intervalo entre as concentrações, em que podem-se encontrar valores de 100% de inibição de crescimento micelial

O CMI em azoxistrobina foi superior em 10µg/ml⁻¹, necessitando de uma dose maior para o controle da espécie. Nos fungicidas difenoconazole, tebuconazole e tiofanato metílico o CMI foi entre 1 e 10µg/ml⁻¹, com inibição de 55,60% a 92,90% para difenoconazole, 51,15% a 93,57% para tebuconazole, e 71,72% a 93,57% para tiofanato metílico. Oxicloreto de cobre o CMI foi maior que 10 µg/ml⁻¹. Azoxistrobina + difenoconazole foi o fungicida

que conduziu ao menor índice de crescimento micelial para *C. tropicale*, apresentando o CMI menor, e a ED₅₀ menor que 1µg/ml⁻¹. O CMI em azoxistrobina e oxiclureto de cobre foram maiores que 10µg/ml⁻¹ (Tabela 11).

Tabela. 11 – Valores médios de porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. tropicale* e a concentração mínima inibitória (CMI)¹.

Fungicidas	Concentrações µg ml ⁻¹					CMI
	0,1	0,5	1	5	10	
Azoxistrobina	3,82%	9,64%	3,82%	8,36%	11,20%	>10
Difenoconazole	32,05%	45,53%	55,60%	78,29%	92,90%	1-10
Tebuconazole	15,88%	47,65%	55,03%	76,17%	82,83%	1-10
Tiofanato metílico	-13,90%	11,91%	38,58%	79,94%	87,23%	>1
Oxiclureto de cobre	-9,07%	-7,51%	-3,40%	-5,95%	-4,25%	>10
Azox+Difeno	24,39%	51,91%	51,34%	69,21%	80,00%	<1

¹Intervalo entre as concentrações, em que podem-se encontrar valores de 90-100% de inibição de crescimento micelial.

Em difenoconazole o efeito inibitório foi 55,92% a 81,03% nas concentrações 1 a 10µg/ml⁻¹. Tebuconazole e tiofanato metílico foram os mais eficientes com valores maiores que 1µg/ml⁻¹, com inibição de 73,50% e 93,02% para tebuconazole, e 93,02% e 92,03% para tiofanato metílico. O difenoconazole e azoxistrobina + difenoconazole foram os fungicidas que conduziram o menor índice de crescimento micelial para *C. siamense*, apresentando o CMI menor, e a ED₅₀ entre 1 a 10µg/ml⁻¹(Tabela 12).

Tabela. 12 – Valores médios de porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. siamense* e a concentração mínima inibitória (CMI)¹.

Fungicidas	Concentrações µg ml ⁻¹					CMI
	0,1	0,5	1	5	10	
Azoxistrobina	2,23%	2,37%	0,13%	5,57%	8,92%	>10
Difenoconazole	29,28%	49,37%	55,92%	71,12%	81,03%	1-10
Tebuconazole	-6,69%	32,07%	44,63%	73,50%	93,02%	>1
Tiofanato metílico	-19,80%	-0,11%	20,92%	93,02%	93,03%	>1
Oxiclureto de cobre	-19,24%	-24,26%	-18,68%	-11,85%	-23,70%	>10
Azox+Difeno	19,52%	45,74%	47,41%	64,01%	69,59%	>1

¹Intervalo entre as concentrações, em que podem-se encontrar valores de 100% de inibição de crescimento micelial.

O CMI em todos os fungicidas testados na espécie *C. karstii* apresentou valor menor que 1 µg/ml⁻¹, com inibição micelial de 89,10% para azoxistrobina, 64,05% a 84,31% para difenoconazole, 70,15% a 89,10% em tebuconazole, 63,83% a 89,10% em tiofanato metílico. e 66,66% a 82,78% em azoxistrobina + difenoconazole. Para oxiclureto de cobre não houve inibição do crescimento micelial *in vitro* (Tabela 13). Resultados semelhantes foram

registrados em *C.gloeosporioides* em mamão utilizando o fungicida tebuconazole (TAVARES; SOUZA, 2004).

Tabela. 13 – Valores médios de porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. karstii* e a concentração mínima inibitória (CMI)¹.

Fungicidas	Concentrações µg ml ⁻¹					CMI
	0,1	0,5	1	5	10	
Azoxistrobina	89,10%	89,10%	89,10%	89,10%	89,10%	<1
Difenoconazole	45,31%	64,05%	66,44%	75,38%	84,31%	<1
Tebuconazole	42,70%	70,15%	74,94%	89,10%	89,10%	<1
Tiofanato metílico	43,35%	63,83%	89,10%	89,10%	89,10%	<1
Oxicloreto de cobre	-6,75%	-1,74%	-2,17%	-4,57%	-4,57%	>10
Azox+Difeno	46,18%	66,66%	69,93%	79,08%	82,78%	<1

¹Intervalo entre as concentrações, em que podem-se encontrar valores de 100% de inibição de crescimento micelial.

Sartori (2007) avaliando a sensibilidade do fungicida tiofanato metílico em *C. lidemuthianum*, observou que a sua ED₅₀ foi menor que 1 µg/ml⁻¹, com inibição micelial de 95 a 97% aproximadamente em concentrações de 1 e 10 µg/ml⁻¹ para os isolados I-1; I-2; I-3; I-4; I-6; I-7; I-9; I-10; I-15 e I-17, corroborando com os resultados obtidos na espécie *C. karstii*. Em *C. acutatum* e *C. gloeosporioides*, utilizando os fungicidas azoxistrobina + difenoconazole e tebuconazole, a ED₅₀ apresentou moderadamente a altamente eficientes em inibir o crescimento micelial dessas espécies (FISCHER et al., 2012).

A fungitoxicidade das espécies de *Colletotrichum* provenientes de pinheira e gravioleira testados em relação aos princípios ativos dos fungicidas devem-se ao fato de que nessas frutíferas não se faz uso de agrotóxicos de forma indiscriminada, conseqüentemente esses fungos não sofreram alguma mutação do gene da β-tubulina ou do sítio de ação, que altera as sequências de base e na síntese de aminoácidos dos códons.

De acordo com Phoulinvong (2011), gerenciar o manejo da antracnose em anonáceas deve ser feita com cautela, devido à presença de espécies de *Colletotrichum* no uso de rotação de culturas. A utilização de melhores práticas culturais combinadas com o controle químico garante a proteção das plantas, e o uso de variedades resistentes, é provavelmente o mais desejável para o controle da doença em anonáceas.

Contudo, esses resultados confirmam a eficiência do ingrediente ativo em baixas concentrações dos fungicidas do grupo dos triázóis e benzimidazóis, controlando as espécies de *Colletotrichum* que causam antracnose em pinheira e gravioleira. Entretanto o oxicloreto

de cobre por ser um fungicida protetor, não conseguiu inibir o crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum*.

3.3.2 Avaliação da sensibilidade das espécies de *Colletotrichum* ao Ácido Salicilhidroxâmico (SHAM).

Foi possível observar diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade entre os tratamentos testados e as espécies de *Colletotrichum* (Figura 1 e 2). O tratamento sem a adição do SHAM (azoxistrobina $10\mu\text{g ml}^{-1}$) observa-se um crescimento micelial parcial em relação à testemunha. O crescimento micelial de *C. karstii* foi inibido com e sem a presença do SHAM. Entretanto, para os demais tratamentos observou-se uma redução no crescimento micelial apenas com a presença do SHAM + azoxistrobina $10\mu\text{g ml}^{-1}$.

Segundo Vanlerberghe; Mcintosh (1997), o ácido salicilhidroxâmico (SHAM) é um inibidor de uma rota de oxidação alternativa (AOX) em certos fungos filamentosos. Alguns desses organismos possuem essa oxidase alternativa ativa, com a capacidade de produzir uma pequena quantidade de ATP, na presença de inibidores da via principal do transporte de elétrons na respiração. Entre os produtos químicos estão as estrobilurinas (azoxistrobina) (VENÂNCIO et al., 1999; SMITH, 2002; ALMEIDA, 2014).

Figura 1 - Crescimento micelial (mm) de espécies de *Colletotrichum* ao ácido Salicilhidroxâmico (SHAM). Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*), Cs (*C. siamense*) e Ck (*C. karsti*).

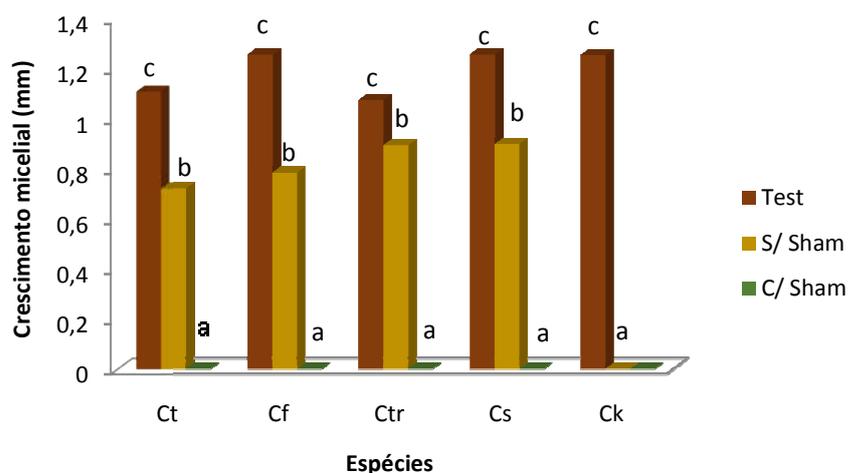
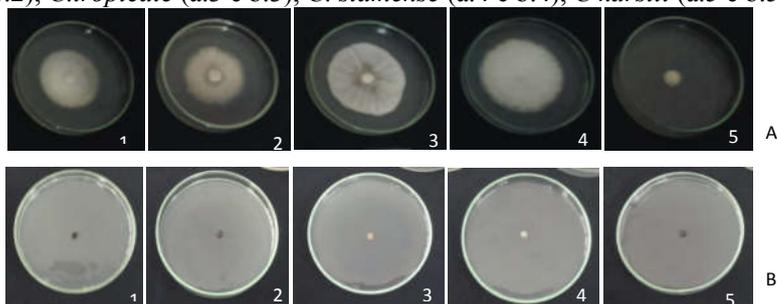


Figura 2 - Espécies de *Colletotrichum* em meio BDA sem adição do SHAM (azoxistrobina $10 \mu\text{g ml}^{-1}$) (A) e com adição do SHAM + azoxistrobina $10 \mu\text{g ml}^{-1}$ (B). *C. theobromicola* (a.1 e b.1), *C. fructicola* (a.2 e b.2), *C. tropicale* (a.3 e b.3), *C. siamense* (a.4 e b.4), *C. karstii* (a.5 e b.5).



Fonte: Autora, 2017.

Thomazella et al., (2012), observaram que o uso dos inibidores, azoxistrobina (inibidor do complexo III) e o SHAM (inibidor específico da AOX), mostraram-se eficientes no controle *in vitro* de *Moniliophthora perniciosa* em cacau, porém não foram eficientes *in vivo*.

Prado (2016) afirma que a combinação de estrobilurinas com SHAM, além de ser efetiva em *M. perniciosa*, mostrou-se eficiente em *C. gloeosporioides* (patógeno de manga, mamão, maracujá e goiaba), *Guignardia citricarpa* (causador da mancha negra dos citrus), *Phytophthora infestans* (patógeno da batata e tomate), *Sclerotinia sclerotium* (causador do mofo branco da soja) e *Venturia pirina* (patógeno da pêra).

3.3.3 Efeito dos fungicidas sobre a germinação de conídios das diferentes espécies de *Colletotrichum*

As médias dos conídios germinados das espécies de *Colletotrichum* submetidos a diferentes concentrações de fungicidas apresentaram interações significativas entre os fatores espécies e concentrações dos fungicidas pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade

A azoxistrobina apresentou baixa eficiência na inibição da germinação dos conídios (Figura 3.a). As espécies de *Colletotrichum* apresentaram inibição dos conídios submetidos ao fungicida difenoconazole (Figura 3.b). A espécie *C. karstii* obteve uma menor quantidade de conídios germinados em todas as concentrações testadas, em média de 4,35%, em seguida a espécie *C. fructicola* com 7,5%, *C.theobromicola* com 14,6% e *C. tropicale* com 17,9%, apresentando diminuição na germinação de conídios. *C. siamense* obteve um maior percentual

de conídios germinados, ocorrendo um declínio à medida que aumenta a dose do fungicida, chegando a 45%.

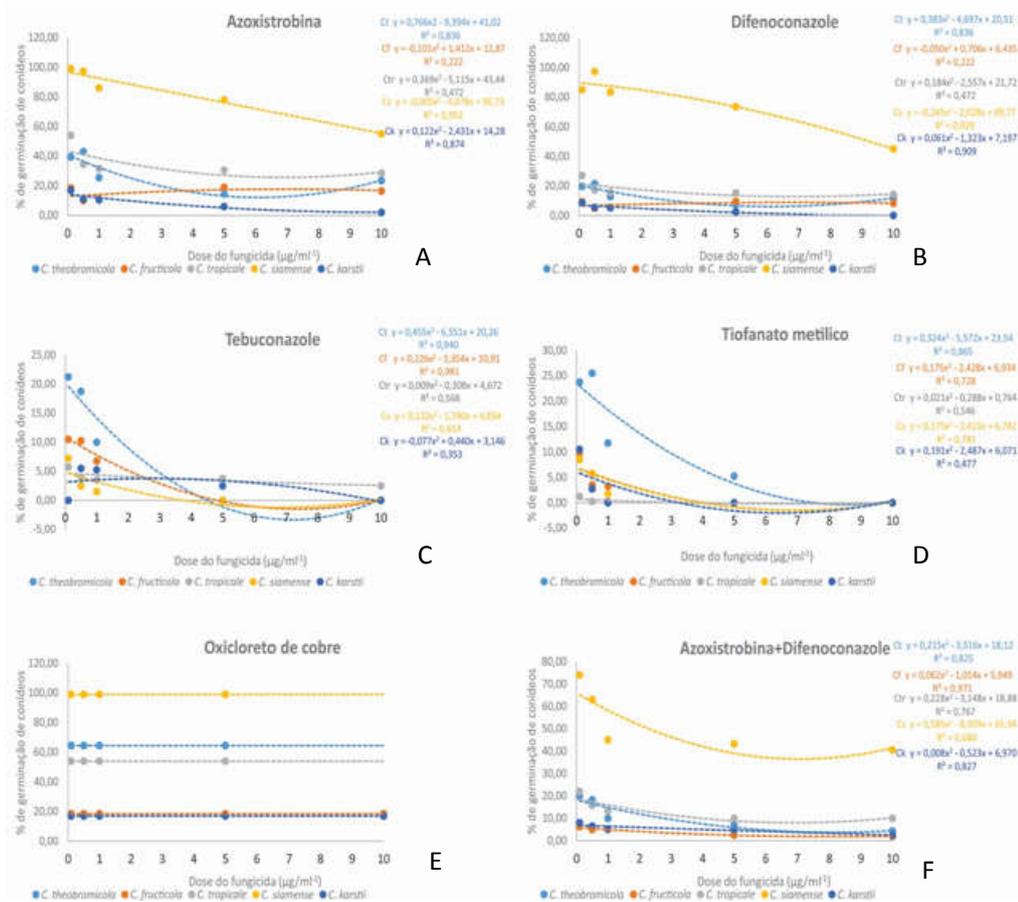
Todas as espécies apresentaram um decréscimo de conídios germinados quando aumentou a dose do fungicida tebuconazole. *C. theobromicola*, *C. fructicola*, *C. siamense* e *C. karstii*, houve inibição total e parcial da germinação de conídios na concentração de 5 e 10 µg/ml. A espécie *C. tropicale* ocorreu apenas um declínio da germinação dos conídios de acordo com o aumento da concentração do fungicida, em média de 2,5% de conídios germinados (Figura 3.c). Em *Lasiodiplodia theobromae* na cultura do coqueiro, tebuconazole apresentou baixa eficiência na inibição da germinação, embora tenha sido utilizada a concentração de 32ppm (LOCATELLI et al, 2015).

As espécies *C. fructicola*, *C. tropicale*, *C. siamense* e *C. karstii* apresentaram 100% de inibição da germinação de conídios nas concentrações de 5 e 10 µg/ml quando utilizou o fungicida tiofanato metílico. Para *C. theobromicola* houve uma diminuição da germinação à medida que se aumentou a dose do fungicida, ocorrendo inibição total da germinação dos conídios (Figura 3.d). Em isolados de *C. lindemuthianum*, o tiofanato metílico apresentou baixa eficiência na inibição da germinação dos conídios sendo a concentração superior a 1000 µg/mL⁻¹ (FILHO, 2013).

Em relação à figura 3.f, o fungicida oxiclóreto de cobre não conseguiu inibir a germinação dos conídios em nenhuma espécie de *Colletotrichum* testada.

A mistura dos fungicidas azoxistrobina + difenoconazole proporcionou a inibição da germinação das espécies de *Colletotrichum* quando comparado a azoxistrobina utilizada separadamente. Esses resultados confirmam a eficiência dos fungicidas difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico e azoxistrobina + difenoconazole na inibição da germinação de conídios, corroborando com os resultados de sensibilidade micelial.

Figura 3 – Porcentagem média de germinação de conídios de espécies de *Colletotrichum* submetidas a cinco concentrações dos fungicidas azoxistrobina (a), difenoconazole (b), tebuconazole (c), tiofanato metílico (d), oxiloreto de cobre (e) e azoxistrobina + difenoconazole (f).



3.4 CONCLUSÕES

Os fungicidas difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico e azoxistrobina + difenoconazole foram capazes de controlar *in vitro* as espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em pinha e graviola, já o oxiclureto de cobre não foi eficiente no controle das espécies.

As espécies *C. theobromicola*, *C. fructicola*, *C. tropicale*, *C. siamense* e *C. karstii* foram altamente sensíveis ao ingrediente ativo com valores da ED₅₀ de 0,1 a 0,75 µg/ml dos fungicidas difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico e azoxistrobina + difenoconazole.

Azoxistrobina associado ao ácido salicilhidroxâmico (SHAM) inibiu totalmente o crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum*.

Os fungicidas difenoconazole, tebuconazole, tiofanato metílico, azoxistrobina + difenoconazole inibiram a germinação de conídios das espécies de *Colletotrichum*.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, F.M. Caracterização de isolados de *Corynespora cassicola* e avaliação da sensibilidade *in vitro* a fungicidas. **Tese de doutorado**. Universidade Federal de Brasília, Brasília. 125p. 2015.

ALMEIDA, G.M. Estudo da função biológica da oxidase alternativa (AOX) em *Saccharomyces cerevisiae*. **Dissertação de mestrado**. Universidade de São Paulo. São Paulo-SP. 80p. 2014.

ALMEIDA, R. de; LUZZARDI, D.G.C. Controle químico. Disponível: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAfc7IAH/control-quimico?part=2>> Acesso em: 24/07/2017

BALARDIN, R. S. **Doenças da Soja**. Santa Maria: Edição do Autor. 100p. 2002.

FAGAN, E.B. A cultura da soja: modelo de crescimento e aplicação de estrobilurina. 2007. 84f. **(Tese de doutorado)**. Escola de ensino superior de Agricultura, ESALQ/USP, Piracicaba, 2007.

FISCHER, I.H. et al., Efeito de fungicidas e produtos alternativos no controle da antracnose e da pinta preta da goiaba. **Semina: Ciências Agrárias** [em línea], 33. 2012. Em 14 de julho de 2017. Disponível em: <http://www.redaluc.org/articulo.oa?id=445744117024>>ISSN1676-546x

FREEMAN, S. et al., *Colletotrichum acutatum* in strawberry under laboratory, house and conditions. **Plant Disease**, Sant Paul, V.81, n.7, p.749-752, July 1997.

GANG, CEUN-HYE et 53W. Analysis of fungicide sensitivity and genetic diversity among *Colletotrichum* species in sweet persimmon. **Plant Pathology Journal**. J.31(2). 115-1122. P. ISSN 1598-2254 e ISSN 2093-9280. 17 de abril de 2015.

PRADO, P.F. VITAL do. Caracterização dos mecanismos de resistência a estrobilurinas no fungo *Moniliophthora perniciosa*, agente causador da vassoura de bruxa do cacaueteiro. 1. Recurso online. **(Dissertação de mestrado)**. Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP. 132p. 2016.

SANTOS, G.R. et al., Resistência de *Didymella bryoniae* a fungicidas no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**. 31:476-482. 2006.

SARTORI, J.E. Avaliação da sensibilidade *in vitro* de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicida. (Dissertação de mestrado). P.9, 2007.

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**, Lavras, v.29, n.1, p.52-59, Jan/Fev 2005.

THOMAZELLA, P.P. et al., The hemibiotrophic 54WW54S pathogen *Moniliophthora perniciosa* depends on a mitochondrial alternative oxidase for biotrophic development. **New Phytol.** 1941025-1034. 10.1111/J.1469-8137. 2012. 04119x. Em março de 2012.

PIÉRRRI SPOLTI. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2012. Disponível em: <www.apsnet.org/edcenter/intropp/topics/pages/fungicidesport.aspx> acesso em: 17/07/2017.

SANTI, A. Os fungicidas.
Disponível:<<http://consultoriaemviticultura.blogspot.com.br/2014/10/os-fungicidas.html>>
Acesso em:24/07/2017.

VANLERBERGHE, G.C.; MCINTOSH, L. Alternative oxidase: from gene to function. **Annual review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. V.38, p.703-734, 1997.

VENÂNCIO, W.S.; RODRIGUES, M.A.T.; BEGLIOMINI, E.; SOUZA, N.L. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. Publication UEPG, Ponta Grossa, v.9, n.3, p.59-68, 2004.

4. INFLUÊNCIA DE PERÍODOS DE PERMANÊNCIA EM CÂMARA ÚMIDA SOBRE A SEVERIDADE DA ANTRACNOSE EM FOLHAS DE *Annona squamosa* L. e *Annona muricata* L.

RESUMO

As condições edafoclimáticas exercem grande influência no desenvolvimento dos patógenos, devido a isso, se faz necessário conhecer sobre a interação patógeno, hospedeiro e ambiente para sistemas de prevenção de doenças e para definir ações de controle. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência dos períodos de permanência em câmara úmida sobre a severidade da antracnose em folhas de pinheira e gravioleira. Foram utilizados dois períodos de permanência em câmara úmida (2 e 5 dias) nas temperaturas de 20, 25 e 30 °C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial (2 x 5), representado por dois períodos de permanência em câmara úmida, cinco espécies de *Colletotrichum* e quatro repetições. O diâmetro das lesões foi determinado medindo-se cada lesão em dois sentidos perpendiculares. Foi observada que no período de permanência de 2 dias de inoculação não houve sintomas de antracnose nas folhas de gravioleira e pinheira em nenhuma das temperaturas testadas. Após 5 dias de permanência, houve o aparecimento de manchas de coloração pardo-escura a preta. A temperatura de 25 °C e o período de permanência de 5 dias favoreceu o aparecimento de sintomas de antracnose em folhas de pinha (*Annona squamosa* L.) e graviola (*Annona muricata* L.).

Palavras chave: Sintomas, umidade, temperatura.

ABSTRAT

The edafoclimatic conditions exert a great influence on the development of the pathogens, due to this, it is necessary to know about the pathogen, host and environment interaction for disease prevention systems and to define control actions. The present work had the objective of evaluating the influence of wet stay periods on the severity of anthracnose in pine and graviola. Two dwell periods were used in humid chamber (2 and 5 days) at temperatures of 20, 25 and 30°C. The experimental design was completely randomized in a factorial arrangement (2 x 5), represented by two residence periods in humid chamber, five *Colletotrichum* species and four replicates. The diameter of the lesions was determined by measuring each lesion in two perpendicular directions. It was observed that in the period of 2 days of inoculation there were no symptoms of anthracnose in sage and pine leaves at any of the temperatures tested. After 5 days of permanence, there was the appearance of dark brown to black spots. The temperature of 25°C and the period of stay of 5 days favored the appearance of anthracnose symptoms in leaves of pineapple (*Annona squamosa* L.) and graviola (*Annona muricata* L.).

Keywords: stain, moisture, temperature.

4.1 INTRODUÇÃO

A antracnose é considerada a doença de maior ocorrência em anonáceas, tendo sido inicialmente identificada como *Colletotrichum gloeosporioides* Penz (RAO, 1975; JUNQUEIRA, JUNQUEIRA, 2014). Posteriormente, *Colletotrichum tropicale*, *C. karstii*, *C. siamense*, *C. theobromicola* e *C. fructicola* foram identificadas no Brasil causando antracnose em folhas de pinheira e gravioleira (COSTA, 2014).

O conhecimento dos efeitos do ambiente no desenvolvimento de patógenos pode auxiliar nas estratégias de manejo de doenças. Informações sobre os fatores ambientais são valiosas no desenvolvimento de sistemas de prevenção de doenças e podem contribuir para definir ações de controle (MAIA et al., 2011).

A temperatura exerce influência no desenvolvimento dos fungos do gênero *Colletotrichum*, tanto no crescimento micelial pelo diâmetro das lesões desenvolvidas sobre o hospedeiro quanto na esporulação e germinação de conídios e formação de apressórios que é favorecido por temperaturas de 25°C e um período de 12 a 18 horas de umidade (POLTRONIERI, 2012; TAVARES, SOUZA, 2005; LOPEZ, 2005). Os patógenos diferem em suas preferências por alta ou baixa temperatura, uma vez que a mesma afeta a germinação de esporos e o número de esporos formados (AGRIOS, 1997).

A temperatura e umidade na superfície da planta são fatores que afetam o progresso da doença em plantas (SILVEIRA et al., 2001) e são capazes de funcionar como reguladores da velocidade com que se desenvolvem as epidemias (POLTRONIERI, 2012), porém, pouco são os estudos encontrados envolvendo espécies de *Colletotrichum*.

Considerando a importância das anonáceas e por se verificar na literatura a inexistência de trabalhos relacionados com os efeitos das condições ambientais no desenvolvimento da antracnose, este estudo objetivou avaliar a influência dos períodos de permanência em câmara úmida sobre a severidade da antracnose em folhas de pinheira e gravioleira.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Influência dos períodos de permanência em câmara úmida sobre a severidade da antracnose em folhas de pinha (*Annona squamosa* L.) e graviola (*Annona muricata* L.)

Para avaliação da influência dos períodos de permanência em câmara úmida, foram utilizadas folhas de pinha (*Annona squamosa*) e graviola (*Annona muricata*) assintomáticas. As folhas foram acondicionadas separadamente em sacos plásticos contendo algodão umedecido com água destilada. O período de câmara úmida foram de 2 e 5 dias, porque só a partir desses dias que começaram a surgir as lesões na folhas de pinha e graviola, submetidas as temperaturas de 20 °C, 25 °C e 30 °C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial (2 x 5), representado por dois períodos de permanência em câmara úmida, cinco espécies de *Colletotrichum* e quatro repetições. Após o período de permanência o diâmetro das lesões foi determinado medindo os dois sentidos perpendiculares com o auxílio de um paquímetro digital. Os valores médios obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). O diâmetro das lesões ocasionadas pelas diferentes espécies de *Colletotrichum* foi comparado pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade, utilizando o software ASSISTAT 7.7 beta.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Períodos de permanência em câmara úmida sobre a severidade da antracnose em folhas de pinha (*Annona squamosa* L.) e graviola (*Annona muricata* L.)

Os tratamentos realizados para avaliar o efeito da temperatura na severidade das espécies do gênero *Colletotrichum* em folhas de pinheira e gravioleira, apresentaram resultados significativos ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tukey (Figura 4 e 5). No período de permanência de 2 dias de inoculação não houve sintomas de antracnose nas folhas de pinheira e gravioleira em nenhuma das temperaturas testadas. Segundo Dias et al. (2005), uma das principais variáveis climáticas é a temperatura, responsável pela infecção e posterior colonização de patógenos do gênero *Colletotrichum*.

Em folhas de pinheira, após 5 dias de permanência em câmara úmida ocorreu o aparecimento dos sintomas típico de antracnose na temperatura de 25 °C (Figura 4).

Figura 4 - Avaliação da permanência em câmara úmida em folhas de pinheira, após 5 dias em diferentes temperaturas. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*), Cs (*C. siamense*) e Ck (*C. karsti*).

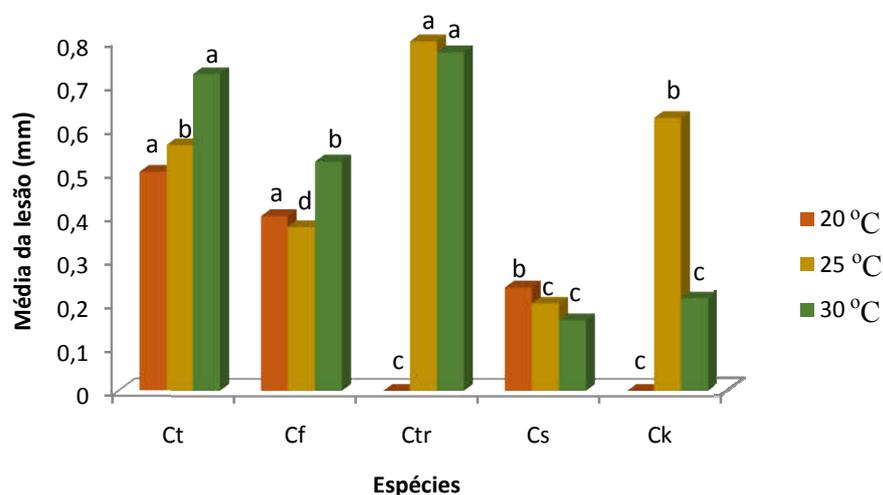
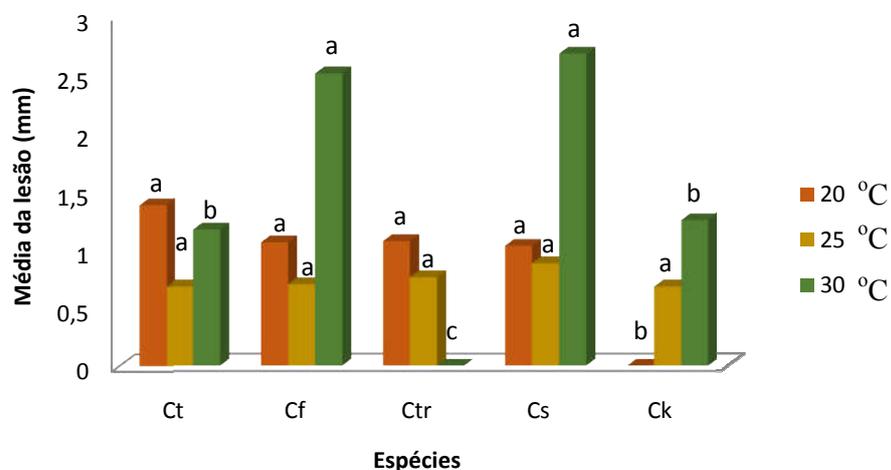
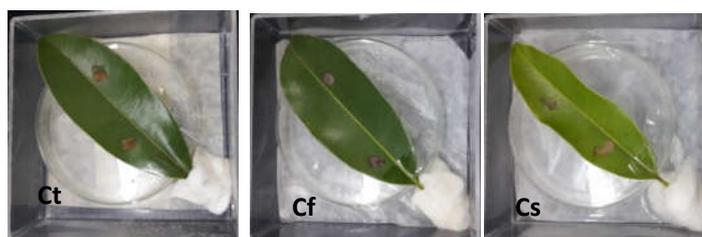


Figura 5 - Avaliação da permanência em câmara úmida em folhas de graviola, após 5 dias em diferentes temperaturas. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*), Cs (*C. siamense*) e Ck (*C. karsti*).



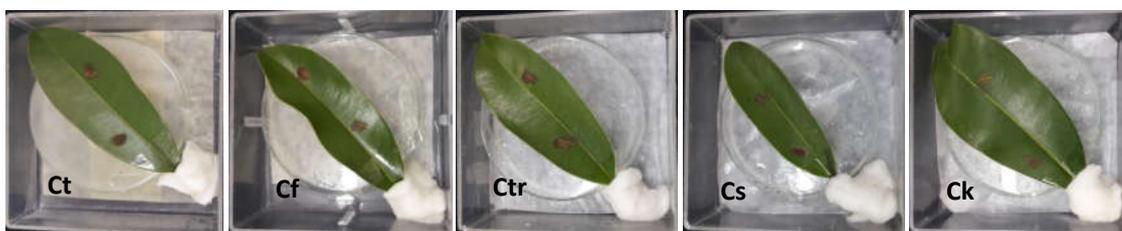
As espécies *C. theobromicola*, *C. fructicola* e *C. siamense* causaram sintomas em todas as temperaturas. Os sintomas de antracnose não foram observados nas folhas de pinheira inoculadas com as espécies *C. tropicale* e *C. karstii* quando utilizou a temperatura de 20 °C (Figura 6). Todas as espécies de *Colletotrichum* causaram sintomas típicos de antracnose nas temperaturas de 25 °C e 30 °C (Figura 7 e 8, respectivamente). Porém, a temperatura de 25 °C proporcionou maior severidade nas folhas de pinheira.

Figura 6 – Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas de pinha após 5 dias de inoculação na temperatura de 20 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*) e Cs (*C. siamense*).



Fonte: Autora, 2017.

Figura 7 - Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas de pinha após 5 dias de inoculação na temperatura de 25 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*) e Cs (*C. siamense*).



Fonte: Autora, 2017.

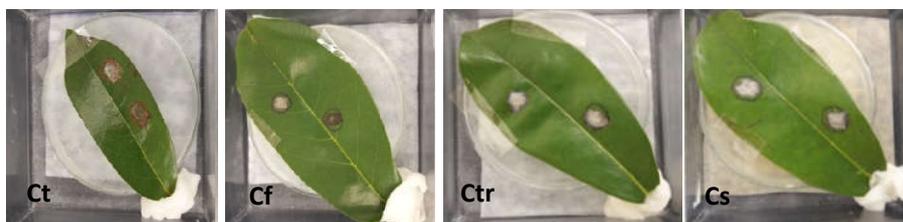
Figura 8 - Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas de pinha após 5 dias de inoculação na temperatura de 30 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*) e Cs (*C. siamense*).



Fonte: Autora, 2017.

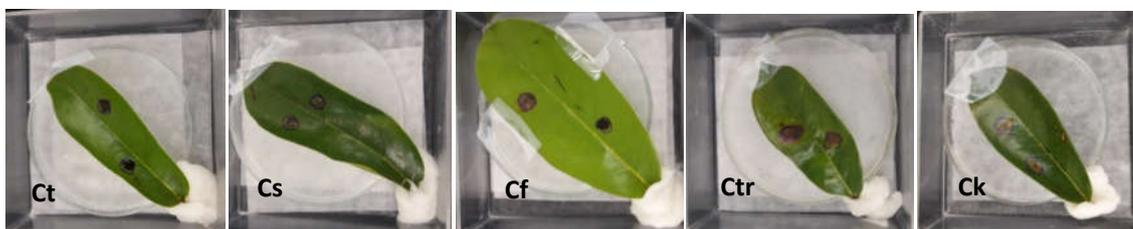
Em folhas de gravioleira após 5 dias de permanência em câmara úmida, houve o aparecimento de manchas de coloração pardo-escura a preta. As espécies *C.theobromicola*, *C. tropicale*, *C. fructicola* e *C. siamense* causaram sintomas de antracnose quando submetidas a temperatura de 20 °C, com exceção da espécie *C. karstii* (Figura 9). Todas as espécies causaram sintomas de antracnose nas folhas de gravioleira quando submetidas à temperatura de 25 °C (Figura 10). Na temperatura de 30 °C, as espécies *C. siamense*, *C.fructicola*, *C. theobromicola* e *C. kasrtii* causaram sintomas de antracnose (Figura 11), porém, não foi possível observar desenvolvimento de sintomas para *C. tropicale*.

Figura 9 - Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas de graviola após 5 dias de inoculação na temperatura de 20 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Ctr (*C. tropicale*) e Cs (*C. siamense*).



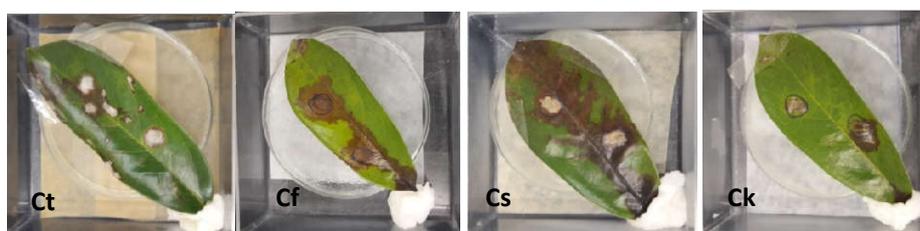
Fonte: Autora, 2017.

Figura 10 - Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas de graviola após 5 dias de inoculação na temperatura de 25 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Cs (*C. siamense*) e Ck (*C. karsti*).



Fonte: Autora, 2017.

Figura 11 - Lesão da antracnose sob os períodos de câmara úmida em folhas de graviola após 5 dias de inoculação na temperatura de 30 °C. Ct (*Colletotrichum theobromicola*), Cf (*C. fructicola*), Cs (*C. siamense*) e Ck (*C. karsti*).



Fonte: Autora, 2017.

Oliveira (2016) observou em cladódios de palma forrageira que *C.siamense*, apresentou maiores lesões nas temperaturas de 22°C e 26°C diferindo das demais temperaturas, e que esta espécie, causou maiores lesões em todas as temperaturas estudadas, indicando maior severidade quando comparada com as demais espécies testadas. *C. karstii* e *C. fructicola* apresentaram lesões significativamente maiores apenas na temperatura de 22°C. Maia (2011) observou que isolados de *Colletotrichum* obtidos de manga, apresentaram

melhor desenvolvimento quando submetidos às temperaturas de 20 °C e 25 °C. A temperatura ideal para o crescimento vegetativo na maioria das espécies de *Colletotrichum* está na faixa de 25 °C a 30 °C (SUTTON, 1992).

Soares et al. (2008) afirmam que a temperatura influencia a velocidade da germinação de conídios, formação de apressórios, penetração e colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *C. acutatum* agentes causais da antracnose da goiaba. Em isolados de *C. gloeosporioides* obtidos de solanáceas, foi constatado que o desenvolvimento das colônias ocorreu na faixa de temperatura entre 25° C e 28°C (TOZZE JUNIOR et al., 2006). Segundo Bedendo e Amorim (2011), as temperaturas baixas levam à paralisação das atividades do patógeno ou mesmo podem causar sua morte, já as temperaturas muito altas podem provocar o dessecamento das estruturas fúngicas presentes na fonte de inóculo.

Em frutos de tomateiro, a temperatura de 25 °C influenciou significativamente a incidência de podridões causadas por *Fusarium verticillioides*, *Geotrichum candidum* e *Rhizopus stolonifer* (SILVEIRA et al., 2001).

Os resultados deste trabalho demonstram a influência da variável temperatura, do período de permanência em câmara úmida na severidade das espécies de *Colletotrichum* de pinheira e graviroleira.

4.4 CONCLUSÃO

A temperatura de 25 °C e o período de permanência de 5 dias favoreceu o aparecimento de sintomas de antracnose em folhas de pinha (*Annona squamosa* L.) e graviola (*Annona muricata* L.).

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 4ed. San Diego. Academic Press. 1997.

BEDENDO, I. P.; AMORIM, L. Ambiente e doença. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. Piracicaba, 2011. v. 01. Cap. 7, p. 133-147.

BRUNTON, L. L. et al., Base evolutiva da emergência da resistência. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. AMGH Editora Ltda, 12.ed. 1377p. 2012.

COSTA, J. F. O. Caracterização e epidemiologia comparativa de espécies de *Colletotrichum* em anonáceas no Estado de Alagoas (**Tese de doutorado**). Universidade Federal de Alagoas, Maceió-Al. 110 p. 2014.

CUIDAR. Disponível em: <<http://www.cuidar.com.br/graviola>> Acesso em: 15 de março 2016.

HALL, B. G. Phlogenetic Trees Made Easy: **A How-to Manual for Molecular Biologists**. Massachusetts U.S.A.: Sinauer Associates, Inc., 2001.

JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P. **Principais doenças de anonáceas do Brasil: Descrição e Controle**. Palestra Anonáceas - V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação (19 a 23 de Agosto de 2013). Botucatu-SP. v. 36, edição especial, e. p. 055-064. 2014.

LOPEZ, A. M. Q. **Doenças das anonáceas e do urucuzeiro**. p. 73-77. In: KIATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (eds.), **Manual de Fitopatologia**. v.2, Doenças das plantas cultivadas, 4ª ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 663p., 2005.

MAIA, F.G.M et al., Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de mangueira com sintomas de antracnose. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.27, n.2, p.205-210, 2011.

O'DONNELL K.; CIGELNIK, E. Two divergent intragenomic rDNAITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 7, p. 103-116, 1997.

OLIVEIRA, L.F.M. Etiologia da mancha marrom de palma (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck), resistência de genótipos e efeito da temperatura e umidade sobre a doença. (**Tese de doutorado**). Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 72p. 2016.

PHOULIVONG, S. *Colletotrichum*, naming, control, resistance, biocontrol of weeds and current challenges. **Current Research in Environmental e Applied Mycology** (1), 53-73, 2011.

POLTRONIERI, T.P.S. **Patogenicidade, efeito da temperatura no desenvolvimento e controle de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causadores da antracnose da Juçara (*Euterpe edulis* Mart.)**. 2012. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia Aplicada). Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2012.

ROJAS EI, REHNER SA, SAMUELS GJ, et al., *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panamá: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. **Mycologia**102: 1318–1338. 2010.

SILVEIRA, N.S.S. et al., Influência da temperatura, período de molhamento e concentração do inoculo de fungos na incidência de podridões pós-colheita em frutos de tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**.v.26, p.33-38. 2001.

SOARES, A. R.; LOURENÇO, S. A.; AMORIM, L. Infecção de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum truncatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 265- 272, 2008.

SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey JA, Jeger MJ, editors. *Colletotrichum: biology, pathology and control*. CAB International: Wallingford, United Kingdom. 1–26. 1992.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E. de. Efeito de fungicidas no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotécnica**. Lavras, v. 29, n. 1, p. 52-59, jan./fev. 2005.

TOZZE JUNIOR, H.J.; MELLO, B.A.; MASSOLA-JUNIOR, N.S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp.causadores de antracnose em solanaceas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.32, n.1, p.77-79, 2006.