

# EFEITO DE FUNGICIDAS EM *Colletotrichum acutatum* E CONTROLE DA ANTRACNOSE DO MORANGUEIRO

RAFAELA M. KOSOSKI<sup>1</sup>, CLEBER FURLANETTO<sup>2</sup>, CELSO K. TOMITA<sup>1</sup> & ADALBERTO C. CAFÉ FILHO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, CEP 70910-900, Brasília, DF, e-mail: cafeilh@unb.br;

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Oeste do Paraná, UNIOESTE, Cx. Postal 91, CEP 85960-000, Marechal Cândido Rondon, PR

(Aceito para publicação em 10/07/2001)

Autor para correspondência: Adalberto C. Café Filho

KOSOSKI, R.M., FURLANETTO, C., TOMITA, C.K. & CAFÉ FILHO, A.C. Efeito de fungicidas em *Colletotrichum acutatum* e controle da antracnose do morangueiro. Fitopatologia Brasileira 26:662-666. 2001.

## RESUMO

Onze fungicidas foram analisados *in vitro* e seus efeitos testados em campo para o controle de *Colletotrichum acutatum*, agente da flor-preta do morangueiro (*Fragaria X ananassa*). Os tratamentos (campo) foram (dosagens de i.a./100 l): iprodione (75 ml), benomil (100 g), tebuconazole (50 ml), tiofanato metílico (70 g), prochloraz (100 ml), propiconazole (50 ml), mancozeb (200 g), folpet (270 g), sulfato de cobre (200 g) e chlorotalonil (200 g), em pulverizações semanais (protetores) e quinzenais (sistêmicos). Foram avaliados a produção de frutos e o número de flores com sintoma de queima. Nos testes de fungitoxicidade *in vitro*, estudou-se o crescimento micelial, a germinação de conídios e a formação de apressórios. Nos testes *in vitro* foram utilizadas as concentrações de 1 e 10 ppm de i.a. para todos os fungicidas e posteriormente testadas as concentrações de 0,01, 0,1 e 1 ppm

para os mais eficientes, e 10, 50 e 100 ppm para os menos eficazes. Os que resultaram em maior inibição micelial em baixas concentrações foram prochloraz e tebuconazole e os que menos inibiram o crescimento micelial foram sulfato de cobre, clorotalonil e folpet. Para inibir a germinação conidial mostraram-se mais eficientes chlorotalonil, tebuconazole, prochloraz e benomil, e para inibir a formação de apressórios, chlorotalonil e benomil. Os resultados de campo diferiram parcialmente dos testes *in vitro*: prochloraz e sulfato de cobre apresentaram os menores percentuais de flores doentes (53-55%), enquanto benomil apresentou 100% de ataque. Embora prochloraz, seguido de iprodione, folpet e mancozeb tenham resultado em maiores produções, nenhum fungicida controlou a doença satisfatoriamente.

**Palavras-chave:** *Fragaria X ananassa*, controle químico.

## ABSTRACT

### Effect of fungicides on *Colletotrichum acutatum* and field control of strawberry flower blight

Eleven fungicides were tested in the field, and their effects on *Colletotrichum acutatum*, the agent of strawberry (*Fragaria X ananassa*) flower blight, were examined *in vitro*. Treatments and doses tested in the field per 100 l of water were iprodione (75 ml), benomyl (100 g), tebuconazole (50 ml), methyl thiofanate (70g), prochloraz (100 ml), propiconazole (50 ml), mancozeb (200 g), folpet (270 g), copper sulfate (200 g) and chlorothalonil (200 g), sprayed weekly (protectants) or bi-weekly (systemic). Fruit yield and number of blighted flowers were computed. For the *in vitro* fungitoxicity tests, the rate of mycelial growth rate of conidial germination and appressorium formation were studied in fungicide dilutions. *In vitro* tests were conducted with 1 and 10 ppm, and subsequently at 0.01, 0.1 and 1 ppm for the most efficient products and at 10, 50 and 100

ppm, for the least efficient a.i. The fungicides that resulted in least mycelial growth at the lowest concentrations were prochloraz and tebuconazole, and the ones that least inhibited mycelial growth the was copper sulfate, chlorothalonil and folpet. Most efficient products for inhibition of conidial germination were chlorothalonil, tebuconazole, prochloraz and benomyl. Most efficient products for inhibition of appressorium formation were chlorothalonil and benomyl. Field results were partially different from *in vitro* results: prochloraz and copper sulfate had the lowest percentages of blighted flowers (53-55%), whereas benomyl had 100% blighted flowers. Although prochloraz, followed by iprodione, folpet and mancozeb resulted in larger fruit yields, no product alone provided sufficient control of strawberry flower blight.

Dentre os patógenos que limitam o cultivo do morangueiro (*Fragaria X ananassa* Duch.) destaca-se *Colletotrichum acutatum* Simmonds, principal agente causal do complexo antracnose do morangueiro no Brasil. A doença

manifesta-se principalmente pelo sintoma denominado flor-preta e encontra-se disseminada nas principais regiões produtoras (Furlanetto *et al.*, 1996b). Além das flores, o fungo também afeta frutos e folhas (Tanaka *et al.*, 1994 e 1996).

A capacidade do patógeno em causar infecções latentes dificulta a visualização de sintomas, principalmente em folhas e hastes, durante a produção de mudas (Tanaka *et al.*, 1996). A dificuldade por parte dos produtores em identificar sintomas em mudas, aliada à carência de cultivares com um bom nível de resistência, favorece a introdução da doença em novas áreas, quando as mudas atuam como inóculo primário. Uma vez iniciada a doença, o inóculo secundário é responsável pela infecção de flores e frutos, principalmente via água de chuva ou de irrigação, podendo ocasionar prejuízos significativos.

O método mais utilizado no controle das doenças do morangueiro tem sido o químico, seja para o complexo da antracnose ou para as demais doenças da cultura (*e.g.*: Furlanetto *et al.*, 1999). As informações recentes relativas ao controle químico da antracnose restringem-se a registros de testes de campo em congressos científicos (Domingues *et al.*, 1997, 1998; Furlanetto *et al.*, 1996a; Sinigaglia, 1996; Smith, 1987). Além disso, não obstante a larga utilização de fungicidas, verifica-se que a maioria dos produtos utilizados se mostram pouco eficientes no controle da flor-preta em campo, são aplicados de maneira inadequada, e nenhum está registrado para o morango no Brasil.

O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência de campo e o efeito *in vitro* de produtos que vêm sendo utilizados para o controle da flor-preta do morangueiro. Foram selecionados fungicidas de diferentes grupos químicos, de ação protetora ou sistêmica, recomendados para o controle de fungos coelomicetos, ao qual pertence o gênero *Colletotrichum*. Para subsidiar a utilização das diversas alternativas químicas em um manejo integrado da doença, os efeitos dos produtos no crescimento micelial, germinação de conídios e formação de apressórios de *C. acutatum* foram examinados separadamente *in vitro* (Kososki *et al.*, 1997, 1998).

### Testes de fungitoxicidade *in vitro*

**Crescimento micelial:** Para o crescimento micelial, os ensaios foram conduzidos em incubadora biológica a 25 °C e fotoperíodo de 12 h a partir da inoculação em BDA de discos de micélio de 7 mm de diâmetro. Foi utilizado o isolado de *C. acutatum* UnB-9, originário do DF, cuja identidade e patogenicidade haviam sido comprovadas (Barros *et al.*, 1997). Os seguintes ingredientes ativos (i.a.) foram testados: iprodione; benomil; tebuconazole; tiofanato metílico; prochloraz; propiconazole; mancozeb; folpet; sulfato de cobre; chlorotalonil. Os i.a. foram dissolvidos em acetona a 1% antes de serem incorporados em BDA à 45 °C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Nos primeiros ensaios, benomil foi considerado o tratamento-padrão devido à sua larga utilização na cultura do morangueiro. Nos demais ensaios, foram incluídas duas testemunhas (BDA e BDA + 1% de acetona). O crescimento micelial foi avaliado com régua milimetrada oito dias após a inoculação em meio de cultura e as áreas de micélio foram calculadas pelo diâmetro médio de cada repetição ( $\pi d^2/4$ ).

**Germinação de conídios e formação de apressórios:** Para a avaliação da germinação de conídios e da formação de apressórios utilizou-se incubadora biológica a 25 °C no escuro. Dimetilsulfóxido (DMSO) a 1% foi o solvente usado para todos os fungicidas, incluindo-se como testemunhas DMSO 1% e água destilada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições, dez tratamentos fungicidas e duas testemunhas. Os experimentos foram executados em lâminas escavadas, e em cada lâmina, contendo 30 µl de suspensão de  $2 \times 10^5$  conídios/ml juntamente com cada i.a. A suspensão de esporos foi obtida de colônias em BDA com sete a dez dias de crescimento. As leituras de germinação de conídios e formação de apressórios foram realizadas 24 h após a incubação da suspensão de conídios, com a interrupção do processo através da adição de azul-de-algodão. Foram calculadas as percentagens de conídios germinados e de conídios que formaram apressórios. Consideraram-se como germinados os conídios com tubo germinativo maior que o próprio comprimento.

Separação por etapas dos ensaios segundo a concentração dos i.a. Tanto para crescimento micelial, quanto para germinação de conídios e formação de apressórios, as avaliações foram executadas em séries de três ensaios: (a) concentrações intermediárias: o primeiro ensaio incluiu todos os 10 i.a. a 1 e 10 ppm para crescimento micelial e a 1 ppm para germinação de conídios e formação de apressórios; (b) baixas concentrações: no segundo ensaio foram testados os melhores tratamentos do primeiro ensaio em 0,01, 01 e 1 ppm e as testemunhas BDA e BDA + acetona a 1% ou água destilada e DMSO a 1%; (c) altas concentrações: no terceiro ensaio, foram incluídos os i.a. menos eficientes no primeiro ensaio nas concentrações de 10, 50 e 100 ppm e as testemunhas pertinentes. Cada ensaio foi repetido duas vezes.

Os dados obtidos foram transformados para arco seno raiz de  $x + 1/2$  e submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey a 5%.

### Ensaio de campo

Mudas de morango, obtidas de cultivo de meristemas (In Vitro Biotecnologia de Plantas Ltda), foram instaladas em área produtora em Brazlândia, DF. O ensaio constou de 11 tratamentos e quatro repetições em blocos ao acaso, com 12 plantas por parcela, sendo a parcela útil constituída pelas quatro plantas centrais. Os tratamentos e dosagens de i.a./100 l de água foram: iprodione, 75 ml (protetor); benomil, 100 g (sistêmico); tebuconazole, 50 ml (sistêmico); tiofanato metílico, 70 g (sistêmico); prochloraz, 100 ml (translaminar); propiconazole, 50 ml (sistêmico); mancozeb, 200 g (protetor); folpet, 270 g (protetor); sulfato de cobre, 200 g (protetor); chlorotalonil, 200 g (protetor); e Testemunha pulverizada com água. As aplicações iniciaram-se logo após o transplantio com pulverizador costal de 20 l e bico de vazão cônica, sendo semanais para fungicidas protetores e quinzenais para os sistêmicos. Por ocasião da primeira e segunda floradas, as plantas foram inoculadas com uma suspensão de  $10^6$  conídios/ml do isolado de *C. acutatum* UnB-9. Foram avaliados o peso

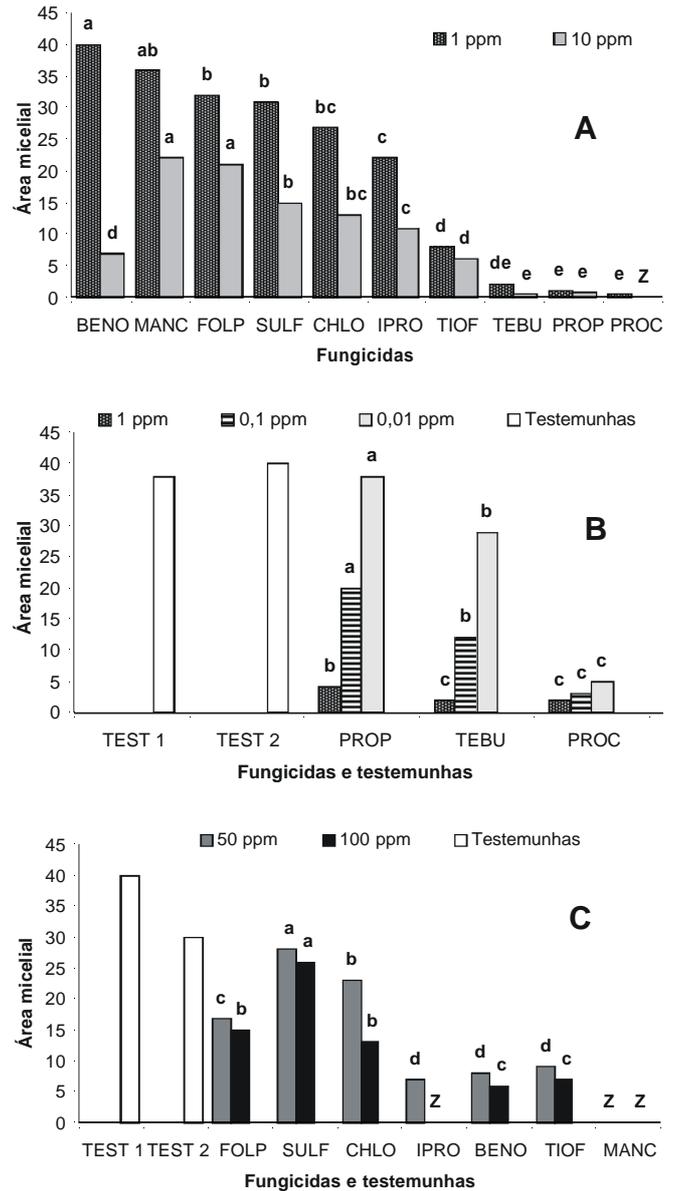
de frutos em colheitas semanais e o número de flores com sintomas da doença ao longo do ciclo da cultura. Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5%.

Para a inibição do crescimento micelial, os fungicidas mais eficientes em concentrações intermediárias (1 e 10 ppm) foram prochloraz, propiconazole e tebuconazole (Figura 1A). Neste ensaio, benomil não foi eficiente a 1 ppm, mostrando-se eficiente apenas a 10 ppm. O segundo ensaio, realizado com os fungicidas de melhor desempenho a 1 e 10 ppm, mostrou que prochloraz foi o fungicida mais eficiente para inibir o crescimento micelial em baixas concentrações (0,1 e 0,01 ppm, Figura 1B). Os fungicidas mancozeb, benomil, iprodione, tiofanato metílico, folpet, sulfato de cobre e chlorotalonil foram testados no 3º ensaio em altas concentrações (50 e 100 ppm). Neste ensaio mancozeb, benomil, iprodione e tiofanato metílico destacaram-se dos demais, reduzindo crescimento micelial de *C. acutatum* (Figura 1C).

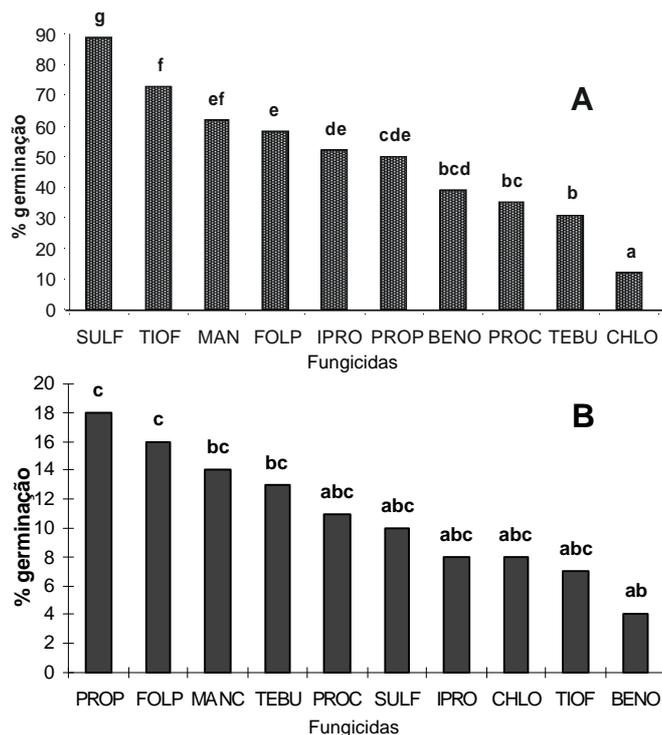
A eficiência comparativa de prochloraz em baixas concentrações sobre o crescimento micelial de *C. acutatum* foi demonstrada anteriormente por Freeman *et al.* (1997). Os resultados apresentados aqui confirmam a eficiência deste i.a. em baixas concentrações (< 1 ppm), principalmente quando comparado a fungicidas protetores como o folpet e o mancozeb. Propiconazole e tebuconazole também foram consistentemente eficientes para a redução do crescimento micelial de *C. acutatum* a 1 ppm. A eficiência de propiconazole em reduzir o crescimento micelial *in vitro* também já havia sido demonstrada por Freeman *et al.* (1997). A avaliação do terceiro ensaio permitiu diferenciar o efeito dos fungicidas sistêmicos e protetores. Os sistêmicos benomil, iprodione e tiofanato metílico apresentaram áreas menores de crescimento que os protetores folpet, sulfato de cobre e chlorotalonil. Entretanto, mancozeb (protetor) foi bastante eficiente em reduzir o crescimento micelial a 50 e 100 ppm.

Os efeitos dos i.a. sobre as taxas de germinação de conídios e de formação de apressórios foram diferentes dos observados para crescimento micelial, refletindo os diferentes processos biológicos mensurados a partir destas variáveis. Com relação à inibição da germinação, o fungicida com melhor desempenho na concentração de 1 ppm foi o chlorotalonil (Figura 2A). Neste tratamento apenas 12% dos conídios germinaram, inferior a todos os demais ( $p < 0,05$ ). Tebuconazole, prochloraz, benomil, propiconazole e iprodione apresentaram taxas de germinação entre 31 e 52%, e também foram testados em baixas concentrações. Entretanto, nenhum tratamento foi eficiente a 0,01 ppm ou 0,1 ppm (resultados não apresentados). A 0,1 ppm prochloraz apresentou a menor taxa de germinação de conídios (42%), enquanto chlorotalonil não foi eficiente nestas concentrações. No terceiro ensaio (altas concentrações: 10, 50 e 100 ppm), mancozeb e folpet foram os que mais inibiram a germinação de conídios, com apenas 1-2% de conídios germinados (dados não apresentados).

O efeito dos fungicidas sobre a formação de apressórios não diferenciou os tratamentos nitidamente a 1 ppm, embora benomil tenha apresentado os menores índices (Figura 2B).



**FIG. 1 - Efeito dos i.a. sobre o crescimento micelial (cm<sup>2</sup>) de *Colletotrichum acutatum* em meio BDA. A, ensaio realizado com todos os fungicidas nas concentrações de 1 e 10 ppm; B, ensaio com os fungicidas mais eficientes no primeiro ensaio, nas concentrações de 0,01, 0,1 e 1 ppm; C, ensaio realizado com os fungicidas menos eficientes no primeiro ensaio, nas concentrações de 50 e 100 ppm. BENO: Benomil; MAN: Mancozeb; FOLP: Folpet; SULF: Sulfato de cobre; CHLO: Chlorotalonil; IPRO: Iprodione; TIOF: Tiofanato Metílico; TEBU: Tebuconazole; PROP: Propiconazole; PROC: Prochloraz; TEST 1: BDA e TEST 2: BDA + acetona 1%. Médias identificadas pela mesma letra minúscula, em cada concentração do i.a., não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Z maiúsculo indica crescimento zero.**



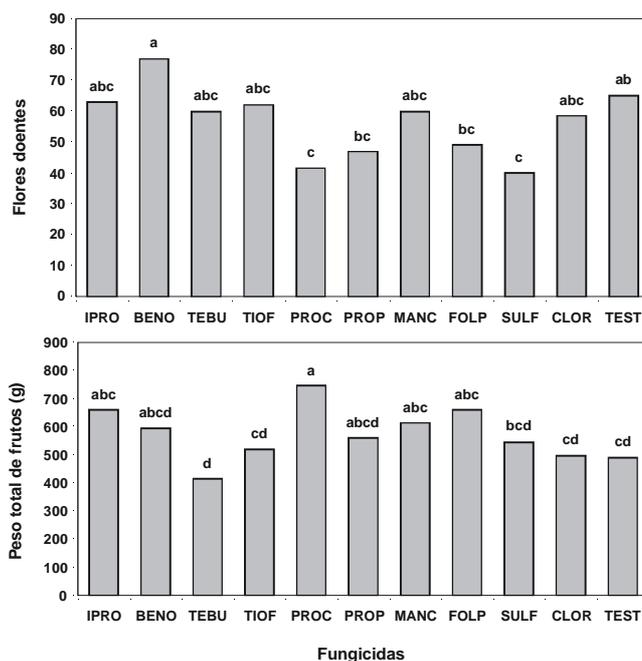
**FIG. 2 - Efeito dos i.a. sobre a taxa de germinação de conídios e formação de apressórios de *Colletotrichum acutatum*. A, ensaio de germinação de conídios com todos os fungicidas na concentração de 1 ppm; B, ensaio de formação de apressórios com todos os fungicidas, na concentração de 1 ppm. SULF: Sulfato de cobre; TIOF: Tiofanato Metílico; MAN: Mancozeb; FOLP: Folpet; IPRO: Iprodione; PROP: Propiconazole; BENO: Benomil; PROC: Prochloraz; TEBU: Tebuconazole; CHLO: Chlorotalonil. Médias identificadas pela mesma letra minúscula, em cada concentração do i.a., não diferem pelo teste de Tukey a 5%.**

O ensaio com baixas concentrações foi realizado com benomil, chlorotalonil, iprodione, tebuconazole, propiconazole e prochloraz. A 0,01 ppm chlorotalonil, benomil e prochloraz foram os mais eficientes, com 2,5, 2,5 e 17 % de apressórios, respectivamente (dados não apresentados). A 0,1 ppm chlorotalonil destacou-se de todos os demais, com a menor percentagem de formação de apressórios. No ensaio realizado com as concentrações de 10, 50 e 100 ppm, mancozeb e folpet apresentaram o melhor desempenho.

A produção de frutos por parcela útil (Figura 3A) destaca o tratamento prochloraz ( $p < 0,05$ ). Com relação à incidência de flores doentes, as parcelas pulverizadas com prochloraz e sulfato de cobre apresentaram menor número de flores doentes que os tratamentos com benomil e a testemunha (Figura 3B). Em relação ao total de flores presentes, prochloraz e sulfato de cobre apresentaram 53-55% de flores doentes por ocasião da colheita, enquanto benomil e

a testemunha apresentaram 85-100% de ataque.

Trabalhos recentes destacam a eficiência de prochloraz em reduzir a porcentagem de flores doentes em campo, aplicado isoladamente ou em combinação com outros fungicidas (Domingues *et al.*, 1997, 1998; Freeman *et al.*, 1997; Sinigaglia, 1996). A baixa eficiência de benomil em campo confirma trabalhos anteriores que mostraram pouca eficiência deste benzimidazol para o controle da doença (Delp & Milholland, 1980; Gullino *et al.*, 1985). Sabe-se que o uso contínuo de benzimidazóis pode levar à formação de estirpes resistentes de *Colletotrichum* sp. De fato, o isolado utilizado neste experimento é proveniente de área de cultivo com uso intensivo de fungicidas e pode representar uma estirpe resistente ao benomil. O bom desempenho do sulfato de cobre no campo, apesar da menor eficiência *in vitro*, sugere um efeito indireto do fungicida sobre o morangueiro, possivelmente induzindo um aumento do nível de resistência à doença. Com efeito, a falta de correspondência completa entre os resultados *in vitro* e de campo explica-se porque cada ensaio *in vitro* visou a análise separada das propriedades dos i.a. em diferentes processos fisiológicos de *C. acutatum*, enquanto que em campo, foram medidos todos os efeitos dos agroquímicos no processo doença, incluindo prováveis efeitos



**FIG. 3 - Efeito dos diferentes i.a. sobre a incidência da doença em flores e a produção de frutos em campo de morangueiro (*Fragaria X ananassa*). IPRO: Iprodione; BENO: Benomil; TEBU: Tebuconazole; TIOF: Tiofanato Metílico; PROC: Prochloraz; PROP: Propiconazole; MANC: Mancozeb; FOLP: Folpet; SULF: Sulfato de cobre; CLOR: Chlorotalonil; TEST: Testemunha não pulverizada. Médias identificadas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.**

na planta e em outros microorganismos.

Aplicações fungicidas, especialmente de prochloraz, garantiram maior produção de frutos e menor ocorrência da doença em flores (Figuras 3A, B). Entretanto, de modo geral, a incidência da doença em todos os tratamentos foi muito alta, mostrando que o controle químico, isoladamente, pode não ser um método eficiente para o manejo da flor-preta e indicando a necessidade de investigação de outras estratégias de controle da antracnose do morangueiro. Finalmente, é necessário notar que estudos complementares de resíduos são necessários antes do registro de qualquer produto para a cultura do morango.

#### AGRADECIMENTOS

C. Furlanetto agradece concessão de bolsa RHAE/CNPq junto à In Vitro Biotecnologia de Plantas Ltda. A Juvenil Cares, pela revisão final do manuscrito.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, T., FURLANETTO, C. & CAFÉ FILHO, A.C. Caracterização de isolados de *Colletotrichum* de morango no Distrito Federal. *Fitopatologia Brasileira* 22:250. 1997. (Resumo).
- DELP, B. & MILHOLLAND, R.D. Control of strawberry anthracnose with captafol. *Plant Disease* 64:1013-1015. 1980.
- DOMINGUES, R.J., TOFOLI, J.G. & OLIVEIRA, S.H.F. Avaliação de fungicidas no controle da flor preta (*Colletotrichum acutatum*) da cultura do morango. *Summa Phytopathologica* 23:66.1997. (Resumo).
- DOMINGUES, R.J., OLIVEIRA, S.H.F, TOFOLI, J.G. & GARCIA, J.R. Controle químico da flor preta (*Colletotrichum acutatum*) do morangueiro com azoxystrobin. *Summa Phytopathologica* 24:72.1998. (Resumo).
- FREEMAN, S., NIZANI, F., DOTAN, S., EVEN, S. & SANDO, T. Control of *Colletotrichum acutatum* in strawberry under laboratory, greenhouse and field conditions. *Plant Disease* 81:749-752. 1997.
- FURLANETTO C., CAFÉ FILHO, A.C., TOMITA, C.K. & CAVALCANTI, M.H. Eficiência de fungicidas e de um composto líquido bioativo no controle da flor preta do morangueiro no Distrito Federal. *Fitopatologia Brasileira* 21:399. 1996a. (Resumo).
- FURLANETTO, C., CAFÉ FILHO, A.C., TOMITA, C.K. & CAVALCANTI, M.H. Doenças do morangueiro e aspectos da produção no Distrito Federal. *Horticultura Brasileira* 14:218-220. 1996b.
- FURLANETTO, C., TOMITA, C.K. & CAFÉ FILHO, A.C. Efeito da época de aplicação de fungicida no controle da mancha de *Mycosphaerella* do morangueiro. *Horticultura Brasileira* 17:231-233. 1999.
- GULLINO, M.L.; ROMANO, M.L. & GARIBALDI, A. Identification and response to fungicides of *Colletotrichum gloeosporioides*, incitant of strawberry black rot in Italy. *Plant Disease* 69:608-609. 1985.
- KOSOSKI, R.M., FURLANETTO, C. & CAFÉ FILHO, A.C. Efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum*, agente da flor preta do morangueiro. *Fitopatologia Brasileira* 22:273.1997. (Resumo).
- KOSOSKI, R.M., FURLANETTO, C. & CAFÉ FILHO, A.C. Efeito de fungicidas sobre a germinação de conídios e formação de apressório de *Colletotrichum acutatum*. *Fitopatologia Brasileira* 23:251.1998. (Resumo).
- SINIGAGLIA, C. Efeito de fungicidas no controle da antracnose do morangueiro. *Summa Phytopathologica* 22:63.1996. (Resumo).
- SMITH, B.J. Greenhouse evaluation of fungicides for control of strawberry anthracnose crown-rot. *Phytopathology* 77:643. 1987. (Resumo).
- TANAKA, M.A.S., PASSOS, F.A. & ITO, M.F. Incidência da cultivar e do estágio fenológico do fruto de morangueiro sobre o desenvolvimento de lesões causadas por *Colletotrichum* spp. *Summa Phytopathologica* 20:160-163. 1994.
- TANAKA, M.A.S., PASSOS, F.A. & BETTI, J.A. Mancha irregular da folha do morangueiro, causada por *Colletotrichum acutatum*, no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 21:486-488. 1996.