

SENSIBILIDADE DE *Stenocarpella macrospora* A FUNGICIDAS

SENSIBILITY OF *Stenocarpella macrospora* TO FUNGICIDE

**Daiana BAMPI¹; Ricardo Trezzi CASA²; João Américo WORDELL FILHO³;
Marta Maria Casa BLUM⁴; Meyrielle Pires de CAMARGO⁵**

1. Doutoranda em Proteção de Plantas, bolsista Capes, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Botucatu, SP, Brasil. daiyanabampi@yahoo.com.br. 2. Professor, Doutor, Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, Lages, SC, Brasil. 3. Pesquisador, Doutor, Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI, Chapecó, SC, Brasil. 4. Professora, Doutora, Universidade Regional Integrada – URI, Erechim, RS, Brasil. 5. Mestranda em Fitopatologia, bolsista CNPq, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, ESALQ, Piracicaba, SP, Brasil.

RESUMO: A aplicação de fungicidas nos órgãos aéreos é estratégia de controle para mancha-de-macrospora causada pelo fungo *Stenocarpella macrospora*. O objetivo do trabalho foi determinar a sensibilidade de *S. macrospora* a fungicidas pela inibição do crescimento do micélio (CM) e germinação de conídios (GC). Foram avaliados 12 fungicidas pertencentes aos grupos químicos dos benzimidazóis, estrobilurinas e triazóis, seis concentrações e dois isolados do fungo (SC e MT). Os fungicidas foram diluídos em água destilada e esterilizada e adicionados ao meio de cultura de batata-dextrose-ágar (micélio) e ágar-água (conídios) após a esterilização. A porcentagem de inibição do CM e GC foi calculada em relação à testemunha, estimando-se valores de concentração inibitória de 50% (CI₅₀). Constatou-se que os fungicidas testados foram altamente fungitóxicos na inibição do CM, sendo que a CI₅₀ foi menor que 1 ppm para todos os fungicidas, não havendo diferença entre isolados. Na inibição da GC, as estrobilurinas apresentaram maior fungitoxicidade, pois a CI₅₀ ficou entre 0,0035 e 0,03 ppm, sendo o isolado SC mais sensível aos fungicidas. Os valores de CI₅₀ para os diferentes fungicidas específicos para *S. macrospora* são úteis no monitoramento da sensibilidade do fungo em regiões com demanda intensa de fungicidas no milho.

PALAVRAS-CHAVE: *Diplodia*. Fungitoxicidade. Mancha-de-macrospora. *Zea mays*.

INTRODUÇÃO

A mancha-de-macrospora, causada pelo fungo necrotrófico *Stenocarpella macrospora* (Earle) Sutton [Sin. *Diplodia macrospora* Earle], tem sido detectada com frequência na cultura do milho no Brasil (CASA et al., 2010; WORDELL FILHO; CASA, 2010; CASA et al., 2011). Além de mancha foliar, o patógeno pode provocar podridão do colmo e da espiga e grãos ardidos (SHURTLEFF, 1992; WHITE, 1999; REIS et al., 2004). Nas lesões foliares o fungo pode produzir inóculo para infecções subsequentes na base da espiga, o que pode reduzir a produtividade e a sanidade de grãos (KOEHLER, 1942; BAMPI et al., 2011).

A principal estratégia de controle da mancha-de-macrospora é a rotação de culturas (CASA et al., 2006), uma vez que a principal fonte de inóculo primário do fungo são os restos culturais infectados que permanecem na superfície do solo em sistema plantio direto e monocultura (ZAMBOLIM et al., 2000; CASA et al., 2003). São escassas informações seguras sobre resistência genética de híbridos de milho a mancha-de-macrospora. Ênfase tem sido dada ao controle de doenças foliares do milho pela aplicação de fungicidas (PINTO, 2004), incluindo o patossistema milho e mancha-de-

macrospora (DUARTE et al., 2009; WORDELL FILHO; CASA, 2010).

A fungitoxicidade de fungicidas é uma propriedade inerente a uma substância química e se caracteriza pela toxicidade aos fungos em baixas concentrações. Parâmetros como CE₅₀ (concentração efetiva ou eficaz, que promove a inibição de 50% do desenvolvimento dos microorganismos), DE₅₀ (dose efetiva), DL₅₀ (dose letal), CL₅₀ (concentração letal), CE₅₀ (concentração efetiva), CI₅₀ (concentração inibitória) ou CMI (concentração mínima inibitória) podem definir a fungitoxicidade de uma substância química (EDGINGTON et al., 1971; REIS et al., 2010).

Uma substância é considerada fungicida quando atua em concentrações baixas. Assim um valor baixo da CI₅₀ indica alta ação fungicida. A CI₅₀ é específica para uma determinada substância química e um determinado patógeno, e pode ter seu valor alterado com o tempo de uso (DELP, 1988; GHINI; KIMATI, 2000; BLUM, 2009; FRAC, 2009).

De acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Mapa, 2011), não existe fungicida específico indicado para mancha-de-macrospora no Brasil, porém, entre os fungicidas disponíveis no mercado brasileiro para uso no controle de doenças do milho, os sistêmicos, pertencentes aos grupos químicos dos triazóis

(inibidores da síntese de esteróis) e das estrobilurinas (inibidores da respiração mitocondrial), são os mais utilizados isoladamente ou em misturas pré-fabricadas. Os benzimidazóis (inibidores da divisão celular) também são utilizados na cultura do milho, porém, com menor intensidade.

As estrobilurinas são mais efetivas nas fases iniciais do ciclo de vida dos patógenos, ou seja, na germinação dos esporos e nos processos iniciais de infecção. Os fungicidas triazóis, não inibem a germinação de esporos, pois utilizam nessa fase os esteróis armazenados e, podem, assim germinar na ausência de sua biossíntese. Podem promover o controle de patógenos fúngicos em fases mais avançadas do seu ciclo, como a colonização (crescimento micelial) e a pré-esporulação (GHINI; KIMATI, 2000; FRAC, 2009).

O controle químico de doenças na cultura do milho é uma prática que vem sendo utilizada na agricultura e tem proporcionado efeitos positivos em relação a áreas não pulverizadas (PINTO, 2004; DUARTE et al., 2009; WORDELL FILHO; CASA, 2010). Por outro lado, a utilização de fungicidas de modo indevido tem proporcionado a insensibilidade de algumas espécies de fungos. Valores de CI_{50} para diferentes fungicidas específicos para *S. macrospora* não foram encontrados na literatura. Contudo, eles podem ser úteis no monitoramento da fungitoxicidade, principalmente em regiões onde a aplicação de fungicidas na cultura é intensa.

Com base no exposto, o objetivo deste trabalho foi determinar *in vitro* a sensibilidade de *S. macrospora* a fungicidas quantificando a inibição do crescimento do micélio e germinação de conídios do fungo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia no Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, (CAV/UEDESC) no ano de 2010.

Sensibilidade micelial de *Stenocarpella macrospora* a fungicidas

Foram utilizados dois isolados do fungo obtidos de folhas de milho do híbrido AS 1565 naturalmente infectadas, proveniente do município de Lages, SC, (altitude de 904 m, latitude 27°48'58" S, longitude 50°19'34" W) e do híbrido P32R48 HX, do município de Lucas do Rio Verde, MT (altitude de 390 m, latitude 13°03'01" S, longitude 55°54'40" W).

As folhas com mancha-de-macrospora coletadas nestes dois municípios foram desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% durante três minutos e depois lavadas com água destilada e estéril. As folhas foram incubadas em câmara úmida para induzir a esporulação do fungo. Cirros de conídios do fungo, oriundos de picnídios do tecido necrosado, foram removidos com agulha histológica e colocados em erlenmeyer contendo 10 mL de água destilada e estéril com 2 gotas L^{-1} do surfactante Twen 20. Uma suspensão de 0,5 mL foi pipetada em placas de Petri contendo meio de cultura ágar-água (AA). As placas foram armazenadas em câmara de crescimento com temperatura de 26 °C e sob luz contínua por 12 horas. Com uma agulha histológica flambada, conídios individuais germinados foram transferidos para uma placa de Petri contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA). As placas foram armazenadas por sete dias nas mesmas condições descritas anteriormente visando obtenção de cultura nonospórica. Após a incubação, foi escolhida uma das colônias desenvolvidas do fungo, com a qual se trabalhou no transcurso dos ensaios. Os isolados foram repicados em tubo de ensaio com meio BDA e armazenados em geladeira.

Os fungicidas utilizados foram: azoxistrobina (Priori 250 SC), trifloxistrobina (Flint 500 WG), piraclostrobina (Comet 250 CE), tebuconazole (Folicur 200 EC), propiconazole (Tilt 250 CE), epoxiconazole (Opus 125 SC), tetraconazole (Domark 100 CE), metconazole (Caramba 90 CE), ciproconazole (Alto 100 CE), carbendazim (Derosal 500 SC), tiofanato metílico (Tiofanato metílico 800 WG) e tiabendazole (Tecto 484 SC).

Os fungicidas foram diluídos em água destilada e estéril e adicionados ao meio de cultura de BDA (fundente) após a esterilização, com temperatura em torno de 45 °C, obtendo-se distintas concentrações finais. Em seguida, o meio de cultura contendo as diferentes concentrações de fungicidas foi vertido em placas de Petri de 80 mm de diâmetro (\pm 20 mL por placa). Após a solidificação as placas foram mantidas em refrigeração (4 °C), por 24 h, até a condução dos trabalhos de incubação.

As concentrações iniciais testadas foram 0; 0,001; 0,1; 1,0; 10 e 100 ppm para todos os fungicidas. Posteriormente, as concentrações finais testadas foram ajustadas para obter concentrações mais próximas da CI_{50} . Cada ingrediente ativo foi ajustado de acordo: azoxistrobina (0; 0,025; 0,05; 0,1; 1 e 10 ppm), piraclostrobina (0; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1 e 1 ppm), trifloxistrobina (0; 0,005; 0,1, 10, 100 e 200 ppm), epoxiconazole, ciproconazole e

tiabendazole (0; 0,01; 0,025; 0,05; 0,1 e 1 ppm), tetraconazole e metconazole (0; 0,01; 0,05; 0,1; 1 e 10 ppm), propiconazole (0; 0,001; 0,005; 0,01; 0,1 e 1 ppm), tebuconazole (0; 0,1; 0,25; 0,5; 1 e 10 ppm), tiofanato metílico (0; 0,05; 0,1; 0,125; 0,25; 0,5 ppm) e carbendazim (0; 0,005; 0,01; 0,025, 0,05 e 0,1 ppm). A concentração 0 ppm representou a testemunha do ensaio.

Após 24 horas, em cada placa de Petri contendo meio de cultura com a respectiva concentração de fungicida, foi colocado ao centro um disco de meio de cultura de 5 mm de diâmetro com o micélio do fungo retirado de colônias puras, repicadas após sete dias de crescimento. Os fungos foram incubados em câmara incubadora tipo BOD com temperatura de 26 °C e fotoperíodo de 12 horas. O crescimento miceliano foi avaliado diariamente com auxílio de um paquímetro digital até que o tratamento testemunha atingisse os bordos da placa.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com quatro repetições, sendo cada unidade experimental constituída de uma placa de Petri. O procedimento foi realizado para os dois isolados do fungo (Lages, SC, e Lucas do Rio Verde, MT).

Com os dados obtidos calculou-se a porcentagem de inibição do crescimento miceliano em relação à testemunha e foi realizada análise de regressão utilizando-se o programa estatístico SAS Versão 9.2. Através da equação de regressão obtida foi calculada a CI_{50} .

Sensibilidade de conídios de *Stenocarpella macrospora* a fungicidas

Foram coletados colmos de milho naturalmente infectados com *S. macrospora* do híbrido AS 1565 provenientes do município de Lages, SC, e P32R48 HX do município de Lucas do Rio Verde, MT.

Os colmos infectados foram desinfestados com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% durante três minutos e depois lavados com água destilada e estéril. Após foram submetidos à câmara úmida sob temperatura de 30 °C por um período de 48 horas até a extrusão do cirro de conídios. Vários cirros foram removidos através de raspagem com um pincel e colocados em erlenmeyer contendo 10 mL de água destilada e estéril com duas gotas por litro do surfactante Tween 20 para obtenção do inóculo.

Os fungicidas testados foram os mesmos usados no ensaio de sensibilidade micelial. Os fungicidas foram diluídos em água destilada e estéril e adicionados ao meio de cultura ágar-água (fundente) após a esterilização, com temperatura em torno de 45 °C, obtendo-se distintas concentrações

finais. Em seguida o meio de cultura contendo as diferentes concentrações de fungicidas foi vertido em placas de Petri de 60 mm de diâmetro (10 mL por placa). Após a solidificação as placas foram mantidas em refrigeração (4 °C), por 24 h, até a condução dos trabalhos de incubação.

As concentrações iniciais testadas foram 0; 0,001; 0,1; 1,0; 10 e 100 ppm para todos os fungicidas. Posteriormente, as concentrações finais testadas foram ajustadas para obter concentrações mais próximas da CI_{50} . Cada ingrediente ativo foi ajustado de acordo: azoxistrobina e piraclostrobina (0; 0,0025; 0,005; 0,01; 0,05 e 0,1 ppm), trifloxistrobina (0; 0,001; 0,0025; 0,005; 0,01 e 0,05 ppm), tetraconazole, ciproconazole, epoxiconazole, metconazole, propiconazole, tebuconazole, tiofanato metílico, carbendazim e tiabendazole (0; 0,01; 0,1; 1; 10 e 100 ppm).

A suspensão de conídios utilizada foi ajustada para 10^3 conídios mL^{-1} , sendo depositado 0,5 mL desta suspensão por placa de Petri contendo o fungicida. A incubação foi conduzida em câmara incubadora com temperatura de 26 °C sob luz contínua por um período de 12 horas. Decorrido o tempo previsto para a incubação, a germinação dos conídios foi interrompida, adicionando-se 0,3 mL de uma solução de acetona (100%) com algumas gotas de corante azul de algodão, em cada placa de Petri. Após as placas foram mantidas em refrigerador (4 °C) para posterior avaliação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada unidade experimental constituída por uma placa de Petri. Em cada placa de Petri foi quantificado a germinação de 100 conídios de *S. macrospora* com auxílio de microscópio ótico. O conídio foi considerado germinado quando apresentou tubo germinativo de comprimento maior ou igual ao menor diâmetro do esporo (CASA et al., 2007).

Com os dados obtidos foi calculada a porcentagem de inibição da germinação de conídios em relação à testemunha e foi realizada análise de regressão utilizando-se o programa estatístico SAS Versão 9.2. Através da equação de regressão obtida foi calculada a CI_{50} .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sensibilidade micelial de *Stenocarpella macrospora* a fungicidas

Na inibição do crescimento micelial não foi observado diferença significativa entre os isolados de *S. macrospora* oriundo de SC e MT (Tabela 1).

Tabela 1. Fungicidas, isolados SC (Lages, SC) e MT (Lucas do Rio Verde, MT), equação de regressão e concentração inibitória de 50 % (CI₅₀) e 100 % (CI₁₀₀) do crescimento micelial de *Stenocarpella macrospora*. Lages, SC, 2011.

Fungicidas	Isolad o	Equação de regressão	R ²	PPM	
				CI ₅₀	CI ₁₀₀
Ciproconazole	SC	$y = 18,02 + 910,5x^* - 828,6x^{2*}$	0,8 6	0,038	1
	MT	$y = 15,47 + 739,9x^* - 655,5x^{2*}$	0,8 6	0,050	1
Epoconazole	SC	$y = 15,99 + 974,8x^* - 890,9x^{2*}$	0,8 9	0,036	1
	MT	$y = 7,15 + 724,0x^* - 632,1x^{2*}$	0,9 4	0,063	1
Metconazole	SC	$y = 31,91 + 68,01x^* - 6,18x^{2*}$	0,7 3	0,30	10
	MT	$y = 26,26 + 63,4x^* - 5,60x^{2*}$	0,7 7	0,40	10
Propiconazole	SC	$y = 23,1 + 681x^* - 605x^{2*}$	0,8 3	0,040	1
	MT	$y = 19,05 + 580,1x^* - 499,7x^{2*}$	0,7 8	0,056	1
Tetraconazole	SC	$y = 19,01 + 88,99x^* - 8,08 x^{2*}$	0,8 5	0,35	10
	MT	$y = 19,21 + 88,22x^* - 8,01x^{2*}$	0,8 7	0,35	10
Tebuconazole	SC	$y = 29,04 + 78,3x^* - 7,12x^{2*}$	0,7 4	0,27	10
	MT	$y = 25,4 + 66,23x^* - 5,87x^{2*}$	0,7 8	0,4	10
Carbendazim	SC	$y = 13,25 + 1119,8x^* - 72266,6x^{2*}$	0,7 7	0,05	0,1
	MT	$y = 10,79 + 847,6x^* - 230,31x^{2*}$	0,6 1	0,047	0,1
Tiofanato metílico	SC	$y = 0,25 + 554x^* - 710x^{2*}$	0,9 8	0,10	0,5
	MT	$y = -4,31 + 397,91x^* - 371,5x^{2*}$	0,9 5	0,16	0,5
Tiabendazol	SC	$y = 0,90 + 524,8x^* - 423x^{2*}$	0,9 8	0,10	1
	MT	$y = 3,51 + 543,8x^* - 447,2x^{2*}$	0,9 7	0,09	1
Azoxistrobina	SC	$y = 40,03 + 63,80x^* - 5,78 x^{2*}$	0,5 8	0,16	10
	MT	$y = 45,08 + 61,19x^* - 5,57x^{2*}$	0,5 1	0,09	10
Piraclostrobina	SC	$y = 28,63 + 906,02x^* - 834,7 x^{2*}$	0,7 7	0,025	1
	MT	$y = 32,84 + 797,61x^* - 730,5x^{2*}$	0,6 8	0,022	1
Trifloxistrobina	SC	$y = 52,77 + 0,77x^* - 0,002x^{2*}$	0,3 8	0,005	100
	MT	$y = 52,12 + 0,71x^* - 0,002x^{2*}$	0,3 6	0,005	100

Dentre os fungicidas inibidores da síntese de esteróis (triazóis), os fungicidas propiconazole, ciproconazole e epoxiconazole mostraram maior inibição do crescimento micelial com concentração inibitória de 50% (CI₅₀) entre 0,040 a 0,063 ppm. Porém, todos os fungicidas mostraram-se eficientes na inibição do crescimento do micélio, apresentando valores de CI₅₀ abaixo de 1 ppm que, segundo classificação de Edgington et al. (1971), enquadram-se como altamente fungitóxicos. Para esse mesmo grupo a concentração de 1 ppm dos fungicidas propiconazole, ciproconazole e epoxiconazole foi suficiente para inibir 100% do crescimento micelial (CI₁₀₀). Já para os fungicidas metconazole, tetraconazole e tebuconazole foi necessária uma concentração de 10 ppm para atingir CI₁₀₀ (Tabela 1).

Em algodoeiro, o fungo *Myrothecium roridum* Tode ex Fr., apresentou alta sensibilidade (valores inferiores a 1 ppm) no crescimento micelial aos fungicidas tebuconazole e metconazole, enquanto ciproconazole e tetraconazole foram classificados como ineficazes (valores acima de 50 ppm) (SILVA et al., 2006). Em isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) do mamoeiro foi observada alta fungitoxicidade para os fungicidas propiconazole e tebuconazole, onde a CI₅₀ foi inferior a 1 ppm (TAVARES; SOUZA, 2005). Em trigo para isolado de *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker, foi observado valores de CI₅₀ entre 0,012 a 0,11 ppm para propiconazole (HUNGER; BROWN, 1987). Resultados semelhantes também foram constatados para *Colletotrichum acutatum* Simmonds do morangueiro que apresentou sensibilidade aos fungicidas propiconazole e tebuconazole (KOSOSKI et al., 2001). A eficiência de propiconazole em reduzir o crescimento micelial de *C. acutatum* também foi demonstrada por Freeman et al. (1997).

Para os fungicidas inibidores da divisão celular (benzimidazóis), os isolados mostraram maior sensibilidade ao carbendazim (Tabela 1), onde a CI₅₀ foi 0,0047 para o isolado MT e 0,050 para o isolado SC sendo a CI₁₀₀ obtida a 0,1 ppm. Tiofanato metílico e tiabendazole também apresentaram CI₅₀ menor que 1 ppm, porém com CI₁₀₀ a 0,5 e 1ppm respectivamente (Tabela 1). Em algodoeiro, o fungo *M. roridum* demonstrou alta sensibilidade no crescimento micelial aos fungicidas carbendazim e tiofanato metílico (SILVA et al., 2006).

Os fungicidas inibidores da respiração mitocondrial (estrobilurinas) mostraram-se

altamente fungitóxicos (Tabela 1), com CI₅₀ entre 0,005 ppm para trifloxistrobina a 0,16 ppm para azoxistrobina. As respectivas CI₁₀₀ para trifloxistrobina, azoxistrobina e piraclostrobina foram 100 ppm, 10 ppm e 1 ppm (Tabela 1). Em mamoeiro, para isolados de *C. gloeosporioides* foi constatado valores de CI₅₀ menores que 1 ppm para o fungicida azoxistrobina (TAVARES; SOUZA, 2005).

De acordo com os critérios propostos por Edgington et al. (1971), compostos químicos que apresentam CI₅₀ menor que 1 ppm são considerados altamente fungitóxicos, com CI₅₀ entre 1 e 50 ppm moderadamente fungitóxicos e com CI₅₀ maior que 50 ppm não tóxicos. Porém em pesquisas recentes esse critério vem sendo questionado, pois a diferença entre 1 e 50 ppm é muito elevada para se enquadrar em um único padrão. Blum (2009) sugere para *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & Syd. que substâncias que apresentam CI₅₀ < 0,1ppm sejam consideradas altamente fungitóxicas, CI₅₀ entre 0,1 e 20 ppm fungitóxicas, CI₅₀ entre 21 e 100 ppm, moderadamente fungitóxica e CI₅₀ > 100 ppm, substância não tóxica.

Todos os fungicidas testados na inibição do crescimento micelial podem ser considerados altamente fungitóxicos de acordo com os critérios propostos por Edgington et al. (1971).

Sensibilidade de conídios de *Stenocarpella macrospora* a fungicidas *in vitro*

Na inibição da germinação de conídios foi observada diferença significativa entre os isolados SC e MT. O isolado SC mostrou maior sensibilidade aos fungicidas avaliados em relação ao isolado MT.

As diferenças de fungitoxicidade de um mesmo produto sobre a inibição da germinação conidial dos isolados avaliados de *S. macrospora*, podem estar relacionadas à variabilidade genética do fungo e, em consequência, à maior ou menor sensibilidade desses isolados aos fungicidas testados. O fato dos isolados serem oriundos de regiões diferentes, com diferentes históricos de aplicações de fungicidas, corrobora essa hipótese, pois o isolado MT é oriundo de lavoura com uso intensivo de fungicidas.

Os fungicidas do grupo das estrobilurinas mostraram maior eficácia na inibição da germinação de conídios em relação aos grupos dos triazóis e benzimidazóis (Tabela 2).

Para ambos os isolados, valores de CI₅₀ inferiores a 1 ppm (altamente sensíveis) foram observados somente para os fungicidas do grupo das estrobilurinas (azoxistrobina, trifloxistrobina e piraclostrobina).

Tabela 2. Fungicidas, isolados SC (Lages, SC) e MT (Lucas do Rio Verde, MT), equação de regressão, e concentração inibitória de 50 % (CI₅₀) e 100 % (CI₁₀₀) da germinação de conídios de *Stenocarpella macrospora*. Lages, SC, 2011.

Fungicidas	Isolad o	Equação de regressão	R ²	PPM	
				CI ₅₀	CI ₁₀₀
Ciproconazole	SC	$y = 21,75 + 3,9x^* - 0,03x^{2*}$	0,6 8	7,7	>100
	MT	$y = 10,26 + 2,43x^* - 0,018x^{2*}$	0,8 6	19,0	>100
Epoconazole	SC	$y = 11,59 + 3,29x^* - 0,02x^{2*}$	0,9 3	12,7	>100
	MT	$y = 12,25 + 3,67x^* - 0,02x^{2*}$	0,9 3	11,0	>100
Metconazole	SC	$y = 20,18 + 7,93x^* - 0,07x^{2*}$	0,7 9	4,0	>100
	MT	$y = 19,47 + 4,35x^* - 0,035x^{2*}$	0,8 9	7,5	100
Propiconazole	SC	$y = 39,1 + 4,52x^* - 0,004x^{2*}$	0,4 6	2,2	>100
	MT	$y = 6,47 + 1,78x^* - 0,010x^{2*}$	0,9 5	21,8	>100
Tetraconazole	SC	$y = 23,61 + 4,26x^* - 0,003x^{2*}$	0,7 6	6,2	>100
	MT	$y = 7,95 + 2,93x^* - 0,002x^{2*}$	0,9 4	14,5	>100
Tebuconazole	SC	$y = 15,98 + 5,36x^* - 0,04x^{2*}$	0,7 6	6,7	>100
	MT	$y = 18,64 + 5,68x^* - 0,04x^{2*}$	0,9 1	5,8	100
Carbendazim	SC	$y = 41,54 + 4,017x^* - 0,0035x^{2*}$	0,4 4	2,1	>100
	MT	$y = 7,42 + 5,11x^* - 0,004x^{2*}$	0,9 4	8,4	>100
Tiofanato metílico	SC	$y = 14,93 + 4,67x^* - 0,04x^{2*}$	0,8 6	8	>100
	MT	$y = 4,28 + 4,030x^* - 0,03x^{2*}$	0,9 8	12,5	>100
Tiabendazol	SC	$y = 39,88 + 4,83x^* - 0,04x^{2*}$	0,5 6	2	>100
	MT	$y = 10,45 + 7,39x^* - 0,006x^{2*}$	0,9 4	5,4	>100
Azoxistrobina	SC	$y = 18,15 + 1734,99x^* - 10031x^{2*}$	0,8 7	0,02	>0,1
	MT	$y = 6,44 + 1776,0x^* - 8081,1x^{2*}$	0,9 7	0,03	>0,1
Piraclostrobina	SC	$y = 37,15 + 2111,5x^* - 15137,6x^{2*}$	0,6 0	0,006	0,1
	MT	$y = 14,29 + 1929,3x^* - 11104x^{2*}$	0,9 2	0,02	>0,1
Trifloxistrobina	SC	$y = 15,89 + 10563,5x^* - 177757x^{2*}$	0,8 7	0,0035	0,05
	MT	$y = -2,01 + 6658,1x^* - 95724x^{2*}$	0,9 8	0,009	>0,05

Em mamoeiro foi observado inibição de 64% da germinação de esporos de *C. gloeosporioides* a uma concentração de 1ppm para o fungicida azoxistrobina (TAVARES; SOUZA, 2005). Resultados semelhantes foram obtidos por Buck e Williams-Woodward (2003) que constataram CI_{50} para *Puccinia hemerocallidis* Thümen inferior a 0,01 ppm para este mesmo fungicida.

Para o isolado SC valores de CI_{50} entre 1 e 10 ppm (moderadamente sensíveis) foram verificados aos fungicidas ciproconazole, metconazole, propiconazole, tetraconazole, tebuconazole, carbendazim, tiofanato metílico e tiabendazole e acima de 10 ppm somente para epoxiconazole (Tabela 2).

Para o isolado MT, valores de CI_{50} entre 1 e 10 ppm foram constatados aos fungicidas metconazole, tebuconazole, carbendazim e tiabendazole, e acima de 10 ppm para ciproconazole, epoxiconazole, propiconazole, tetraconazole e tiofanato metílico (Tabela 2).

Em avaliações da fungitoxicidade de fungicidas na germinação de conídios de *M. roridum* do algodoeiro, o fungicida ciproconazole foi classificado como ineficaz, enquanto que carbendazim e metconazole foram classificados como altamente eficazes (SILVA et al., 2006). Na inibição da germinação de conídios de *C. acutatum* do morangueiro foi relatada a não eficácia dos fungicidas tebuconazole e propiconazole em baixas concentrações (KOSOSKI et al., 2001). Para *Puccinia hemerocallidis* também não foi observado redução na germinação com o fungicida propiconazole (BUCK; WILLIAMS-WOODWARD, 2003).

Para os fungicidas do grupo das estrobilurinas, baixas concentrações também inibiram 100% a germinação de conídios, sendo que a concentração 0,05 ppm para trifloxistrobina e 0,1 ppm para piraclostrobina foi suficiente para obter CI_{100} para o isolado SC. Enquanto que para os demais grupos a concentração de 100 ppm não foi suficiente para inibir 100% (Tabela 2).

Resultados semelhantes foram obtidos por Blum (2009) que constatou maior eficiência dos fungicidas do grupo das estrobilurinas (azoxistrobina, picoxistrobina, trifloxistrobina e piraclostrobina), em relação aos triazóis, (ciproconazole, epoxiconazole, metconazole, flutriafol, microbutanil e tetraconazole) na inibição da germinação de uredosporos de *P. pachyrhizi*. Esse fato sugere a possibilidade do uso de reservas do ergosterol durante o processo de germinação dos esporos, o que pode comprometer desta forma, a resposta observada em testes *in vitro* (BUCK; WILLIAMS-WOODWARD, 2003).

Na inibição da germinação de conídios somente as estrobilurinas podem ser consideradas como altamente fungitóxicas de acordo com Edgington et al. (1971). Os demais fungicidas podem ser enquadrados como moderadamente fungitóxicos.

CONCLUSÃO

Todos os fungicidas foram classificados como altamente fungitóxicos na inibição do crescimento micelial para os dois isolados de *S. macrospora*.

As estrobilurinas mostraram maior eficácia na inibição da germinação de conídios dos dois isolados de *S. macrospora*, quando comparados aos triazóis e benzimidazóis.

O isolado de *S. macrospora* de SC foi mais sensível aos fungicidas testados na inibição da germinação de conídios.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão de bolsa de Produtividade em Pesquisa aos professores Dr. Ricardo Trezzi Casa e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão de bolsa de mestrado a aluna Daiana Bampi.

ABSTRACT: The application of fungicides in the aerial organs is control strategy to *macrospora* spot caused by fungus *Stenocarpella macrospora*. The objective of this study was to determine the sensitivity of *S. macrospora* to fungicides by inhibition of mycelial growth (MG) and conidial germination (CG). It was evaluated 12 fungicides belonging to the chemical groups of the benzimidazoles, triazoles and strobilurins, six concentrations and two isolates of the fungus (SC and MT). The fungicides were diluted in sterile distilled water and added to the culture medium of potato dextrose agar (mycelium) and water-agar (spore) after sterilization. The percentage of inhibition of MC and CG was calculated in comparison with control, estimating of 50% inhibitory concentration (IC_{50}). The fungicides tested were effective in inhibiting the MC. The IC_{50} was less than 1 ppm for all fungicides. There was no difference between isolates. The inhibition of CG had higher fungitoxicity strobilurins, and the IC_{50} was between 0.0035 and 0.03 ppm, and the isolated SC showed the higher sensitivity to the fungicides. The IC_{50} values obtained for fungicides and specific *S.*

macrospora will be useful in monitoring the sensitivity of the fungus, especially in regions with intense demand for fungicides in corn.

KEYWORDS: *Diplodia*. Fungitoxicity. *Macrospora* spot. *Zea mays*.

REFERÊNCIAS

- BAMPI, D.; CASA R. T.; WORDELL FILHO, J. A.; KUHNEM JR, P. R.; PILETTI, G. Relação entre a mancha-de-macrospora na folha da espiga e o rendimento e a sanidade de grãos de milho. In: **VIII Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão**. n. 8, 2011. Chapecó. Resumos... Chapecó: Epagri, 2011. CD-ROOM.
- BLUM, M.M.C. **Sensibilidade de *Pakspora pachyrhizi* a fungicidas**. 2009. 164f. Tese (Doutorado em Agronomia) Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2009.
- BUCK, J. W.; WILLIAMS-WOODWARD, J. L. The effect of fungicides on urediniospore germination and disease development of daylily rust. **Crop Protection**, New York, v. 22, n. 1, p. 135-140, 2003.
- CASA, R. T.; BAMPI, D.; KUHNEM JUNIOR, P. R.; L. S.; BLUM, M. M.; WORDELL FILHO, J. A. Mancha-de-macrospora do milho no Sul do Brasil. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 126, p. 13-18, 2011.
- CASA, R. T.; REIS, E. M.; ZAMBOLIM, L.; MOREIRA, E. N. Efeito da temperatura e de regimes de luz no crescimento do micélio, germinação de conídios e esporulação de *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 137-142, 2007.
- CASA, R. T.; REIS, E. M.; KUHNEM JUNIOR, P. R.; HOFFMANN, L. L. **Doenças do milho: Guia de Campo para identificação e controle**. Lages: Graphel, 2010. 79 p.
- CASA, R.T.; REIS, E.M.; ZAMBOLIM, L. Decomposição dos restos culturais do milho e sobrevivência saprofítica de *Stenocarpella macrospora* e *Stenocarpella maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 28, n. 4, p. 355-361, 2003.
- CASA, R. T.; REIS, E. M.; ZAMBOLIM, L. Doenças do milho causadas por fungos do Gênero *Stenocarpella*. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 31, n. 5, p. 427- 439, 2006.
- DELP, C. J. Fungicide Resistance in North America. APS Press, 1988. 133p.
- DUARTE, R. P.; JULIATTI, F. C.; FREITAS, P. T. Eficácia de diferentes fungicidas na cultura do milho. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 4, p. 101-111, 2009.
- EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 61, p. 42- 44, 1971.
- FRAC Code List: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). Disponível em: <http://www.frac.info/frac/publication/ahang/FRAC_Code_List_2009_web.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2012.
- FREEMAN, S.; NIZANI, F.; DOTAN, S., EVEN, S.; SANDO, T. Control of *Colletotrichum acutatum* in strawberry under laboratory, greenhouse and field conditions. **Plant Disease**, Sant Paul, v. 81, n. 7, p. 749-752, 1997.
- GHINI, R.; KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente. 2000. 78 p.

HUNGER, R. M.; BROWN, D. A. Colony Color, Sporulation, Fungicide Sensitivity, and Pathogenicity of *Pyrenophora tritici-repentis*. **Plant Disease**, Sant Paul, v. 71, n. 10, p. 907-910, 1987.

KOEHLER, B. Natural mode of entrance of fungi into maize ears and some symptoms that indicate infection. **Journal Agricultural Research**, Washington, v. 64, n. 8, p. 421- 442, 1942.

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**, Fortaleza, v. 26, n. 3, p. 662- 666, 2001.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), disponível em:

<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> acesso em: 06 de outubro de 2011.

PINTO, N. F. J. A. Controle químico de doenças foliares em milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.1, p.134-138, 2004.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BRESOLIN, A. C. R. **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. 2. ed. Lages. Graphel. 2004. 144p.

REIS, E. M.; REIS, A.C.; CARMONA, M. A. **Manual de fungicidas: Guia para controle químico de doenças de plantas**. 6º ed. Passo Fundo. Ed. Universidade de Passo Fundo, 2010. 226p.

SHURTLEFF, M.C. **Compendium of corn diseases**. American Phytopathological Society. 1992. 105p.

SILVA, J. C.; MEYER, M. C.; COUTINHO, W. M.; SUASSUNA, N. D. Fungitoxicidade de grupos químicos sobre *Myrothecium roridum* in vitro e sobre a mancha-de-mirotécio em algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p. 755-761, 2006.

TAVARES, G. M.; PAULO ESTEVÃO DE SOUZA DE, 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, 2005.

WHITE, D. G. **Compendium of corn diseases**. Third Edition. The American Phytopathological Society. APS Press. 1999. 78p.

WORDELL FILHO, J. A.; CASA, R. T. Doenças na cultura do milho. In: WORDELL FILHO, J. A.; ELIAS, H. T. **A cultura do milho em Santa Catarina**. Florianópolis: epagri, p. 207-273. 2010.

ZAMBOLIM, L.; CASA, R. T.; REIS, E. M. Sistema plantio direto e doenças em plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 25, n. 4, p. 585-595, 2000.