

Efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial e germinação de esporos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

Ailton REIS¹, Sônia M. A. de OLIVEIRA², Maria MENEZES³, Rosa de L.R. MARIANO⁴

Testou-se, *in vitro*, o efeito dos fungicidas benomil, captan, iprodione e metalaxyl, nas dosagens de 0,5; 1,0; 5,0; 10; 50 e 100 ppm do princípio ativo (p.a.), sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. O fungicida benomil mostrou-se o mais eficiente apresentando média de 72,33%, inibindo completamente o crescimento micelial a partir da dosagem de 5% do p.a.. Quanto a germinação de conídios, captan mostrou-se mais eficiente apresentando média geral de 82,07%, inibindo completamente a germinação de esporos a partir da dosagem de 5% do p.a.

Palavras-chave: *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, controle químico, fungicidas, crescimento micelial, feijão-doença-fungo, esporulação, feijão-murcha-da-folhagem, fungo.

INTRODUÇÃO

A espécie *Fusarium oxysporum* é considerada importante agente de doenças vasculares, causando elevadas perdas na produção e qualidade das culturas, muitas delas de grande expressão econômica tais como algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), fumo (*Nicotiana tabacum* L.), banana (*Musa* sp.), café (*Coffea* sp.), melão (*Cucumis melo* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), batata doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.], ervilha (*Pisum sativum* L.), caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] e feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), entre outras (Agrios, 1988 ; Snyder e Tousson, 1965 ; Menezes, 1983).

Em feijoeiro, *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder, causa uma doença cujos sintomas externos iniciam-se com um amarelecimento e/ou murcha das folhas mais velhas o qual, com o passar do tempo progride para as folhas mais novas. Pode ocorrer uma queda progressiva das folhas até um total desfolhamento e morte das plantas nas variedades muito suscetíveis. Os sintomas primários (internos) da doença caracterizam-se pela descoloração dos vasos lenhosos, podendo estender-se do ramo principal para os ramos laterais, pecíolos e pedúnculos (Kendrick e Snyder, 1942; Kraft, Burke e Haglund, 1981; Vieira, 1988; Hagedorn, 1991).

A forma mais conhecida de controlar doenças de plantas é aquela que usa substâncias tóxicas ao fitopatógeno. A maioria destas é utilizada para controlar patógenos de parte aérea, outras no tratamento de sementes

e solo. O tratamento de sementes visa prevenir o apodrecimento após o plantio ou evitar tombamento das plântulas jovens pelo controle de patógenos contidos nas mesmas ou existentes no solo, enquanto que o tratamento do solo visa os patógenos presentes no mesmo (Agrios, 1988).

No tocante aos estudos sobre controle químico de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, excetuando-se o trabalho de Padilha, apud Ferreira (1983), o qual observou que entre diversos fungicidas testados *in vitro*, thiram mostrou-se mais eficiente; e o próprio trabalho de Ferreira (1983), a qual observou que captan e benomil foram eficientes e superiores ao tiofanato metílico e ao tiabendazole no controle deste patógeno *in vitro*, nada mais foi observado dentro da literatura disponível. Foram encontrados, no entanto estudos sobre o controle químico de outras formas especializadas de *F. oxysporum*, conduzidos em laboratório, casa-de-vegetação e campo.

Este trabalho teve como objetivo testar quatro fungicidas em seis diferentes concentrações do princípio ativo, para controle de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* a nível de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismo

Foi utilizado um isolado de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, obtido de planta de feijão apresentando sintomas típicos de

¹ Bolsista de DCR do CNPq

² Prof. Adjunto do Depto. de Agronomia da UFRPE

³ Prof. Adjunto do Depto. de Agronomia da UFRPE

⁴ Prof. Adjunto do Depto. de Agronomia da UFRPE

murcha, proveniente do município de Petrolina-PE.

Fungicidas

Foram utilizados os fungicidas benomil, captam, iprodione e metalaxil, nas concentrações de 0,5; 1; 5; 10; 50 e 100 ppm do princípio ativo (p.a.).

Inibição do Crescimento Micelial

Os fungicidas foram misturados em água destilada esterilizada (ADE) e adicionados a BDA fundido e resfriado até 45°C, para obtenção das concentrações citadas anteriormente. Após isto, os meios foram vertidos em placas de Petri esterilizadas.

Após o resfriamento dos meios, discos de BDA com 6mm de diâmetro, contendo crescimento ativo do fitopatógeno, foram transferidos para o centro das placas, as quais foram incubadas à temperatura de 24±2°C e umidade de 60±5% sob regime de alternância luminosa (12 h claro/12 h escuro).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 4 x 6, representados pelos quatro fungicidas e as seis concentrações utilizadas, mais a testemunha (sem fungicidas) com quatro repetições.

A avaliação foi efetuada aos sete dias de incubação, quando a testemunha havia preenchido completamente as placas, medindo-se os diâmetros das colônias fúngicas em dois sentidos diametralmente opostos. Com a média das duas medidas calculou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial, empregando-se a seguinte fórmula descrita por Edington, Kew e Barron. (1971):

$$ICM(\%) = [(CMTe - CMTr)/CMTe] \times 100$$

Onde: ICM(%) = porcentagem de inibição do crescimento micelial

CMTe = crescimento micelial do fungo na testemunha

CMTr = crescimento micelial do fungo nos tratamentos.

Inibição da germinação de conídios

Foram testados os mesmos fungicidas do experimento anterior, nas mesmas concentrações, através do método do pareamento de suspensões em lâmina escavada.

A suspensão de conídios foi preparada adicionando-se 20ml de ADE a uma placa de Petri contendo cultura do fitopatógeno com sete

dias de incubação, procedendo-se a remoção das estruturas do fungo com auxílio de uma escova de cerdas macias. A suspensão foi filtrada em camada dupla de gaze esterilizada e a concentração de conídios foi estimada, com auxílio de câmara de Neubauer, sendo ajustada para 1×10^5 con./ml. Foram depositadas 0,2ml de cada suspensão dos fungicidas sobre igual volume de suspensão de conídios do fitopatógeno. Na testemunha depositou-se 0,2ml de ADE sobre igual volume da suspensão de conídios. As lâminas foram mantidas em câmara úmida, feita com auxílio de caixas Gerbox contendo duas camadas de papel de filtro umedecidas com ADE. A incubação foi realizada nas mesmas condições descritas no experimento anterior seguindo o mesmo delineamento experimental.

A avaliação foi realizada após nove horas de incubação, sendo depositada uma gota de azul de Aman em cada cavidade da lâmina e procedendo-se a contagem do número de conídios germinados e não germinados, sob aumento de 100X, em microscópio ótico. Foram considerados como germinados os conídios que apresentavam comprimento do tubo germinativo com, no mínimo, duas vezes a sua largura. Para efeito de cálculo, foi obtida a média das leituras de dois campos microscópicos por repetição. A porcentagem de inibição da germinação de conídios do fitopatógeno foi calculada através da fórmula descrita por Edington, Kew e Barron (1971):

$$IGC(\%) = [(GCTe - GCTr)/GCTe] \times 100$$

Onde: IGC(%) = porcentagem de inibição da germinação de conídios

GCTe = germinação de conídios na testemunha

GCTr = germinação de conídios nos tratamentos

RESULTADOS

O fungicida benomil mostrou-se altamente eficiente propiciando uma média geral de inibição do crescimento micelial de 72,3%, sendo muito superior aos demais fungicidas. Metalaxyl apresentou a mais baixa eficiência propiciando uma inibição média de 24,6% (Tabela 1).

TABELA 1. Inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* pelos fungicidas benomil, captan, metalaxyl e iprodione em seis concentrações.

Concentração (ppm)	Fungicida				Média ¹
	benomyl	captan	metalaxyl	iprodione	
100,0	100,0 ³ a A	100,0 a B	100,0 a A	85,5 a B	96,4 a
50,0	100,0 a A	52,7 b C	21,2 b D	78,2 b B	63,0 b
10,0	100,0 a A	29,2 c C	14,0 c D	68,3 c B	52,9 c
5,0	100,0 a A	10,2 d B	7,4 d BC	5,4 d C	30,7 d
1,0	21,5 b A	7,7 d B	3,5 e C	0,3 e D	8,2 e
0,5	12,5 c A	2,4 e B	1,1 e B	0,0 e B	4,0 f
Média ²	72,3 A	33,7 C	24,6 D	39,6 B	
C.V. = 4,91%					

¹Médias de 24 repetições. ²Médias de 16 repetições. ³Médias de 4 repetições. Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste da DMS.

Como era de se esperar, a medida que foram aumentando as concentrações dos fungicidas, também aumentaram as médias de inibição do crescimento micelial do fungo. Na concentração de 100 ppm apenas iprodione não reduziu o crescimento micelial em 100%, diferindo, portanto, dos demais fungicidas. À medida que as concentrações foram diminuindo, quase todos os fungicidas reduziram significativamente sua capacidade de inibição, com exceção de benomil, que inibiu completamente o crescimento de FOP até na

concentração de 5ppm (Figura 1). propiciando uma média de 82,1% de IGE de FOP, sendo muito superior aos demais tratamentos. Iprodione foi pouco eficiente, apresentando uma média de inibição muito inferior a de captan e também dos demais fungicidas (19,0%) (Tabela 2).

Quanto ao efeito sobre a germinação de conídios, em termos gerais, o fungicida captan comportou-se como o mais eficiente

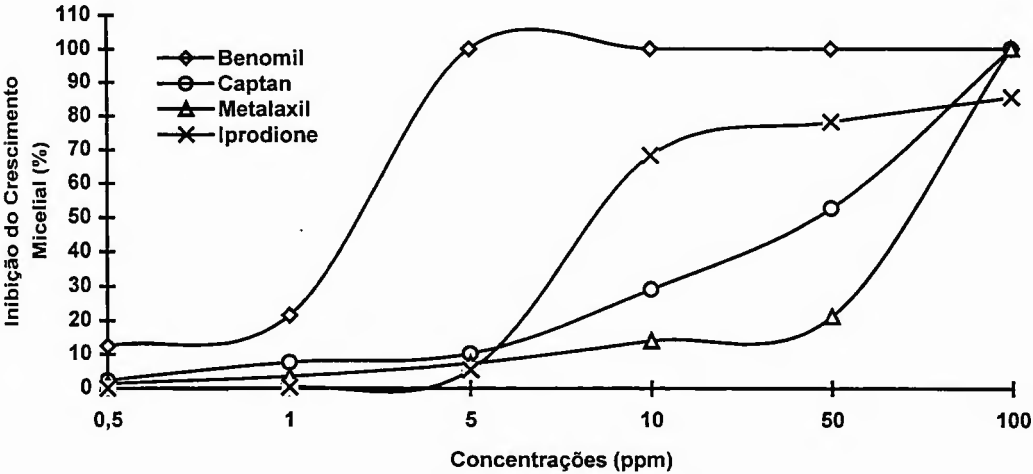


FIGURA 1 - Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* por quatro fungicidas (benomil, captan, metalaxyl e iprodione) em seis concentrações (0,5; 1,0; 5,0; 10; 50 e 100 ppm).

Tabela 2 - Inibição da germinação de conídios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* pelos fungicidas benomil, captan, metalaxyl e iprodione em seis concentrações.

Concentração (ppm)	Fungicida				Média ¹
	benomyl	captan	metalaxyl	iprodione	
100,0	91,4 ³ a A	100,0 a B	100,0 a A	49,9 a C	85,3 a
50,0	79,4 a A	100,0 b C	100,0 a A	42,7 b C	80,5 b
10,0	32,2 a A	100,0 c C	84,4 b B	15,0 c D	57,9 c
5,0	3,5 a A	100,0 d B	66,7 c B	5,9 d C	44,0 d
1,0	1,7 b A	86,2 e B	40,8 d B	0,7 d C	32,3 e
0,5	0,0 c A	6,7 e B	4,5 e A	0,0 d A	2,7 f
² Média	34,7 C	82,7 A	66,1 B	19,1 D	

C.V. = 9,50%

¹Médias de 24 repetições. ²Médias de 16 repetições. ³Médias de 4 repetições. Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste da DMS.

Na concentração de 100ppm, captan e metalaxyl induziram em 100% a inibição da germinação de esporos de FOP, seguidos de benomil (91,4%), o qual havia sido o mais eficiente na ICM. Iprodione novamente foi menos eficiente nesta concentração, propiciando apenas 49,9% de IGE. De modo semelhante à ICM, à medida que as

concentrações dos fungicidas foram diminuindo, a inibição da germinação dos conídios do fungo também diminuiu proporcionalmente. Como aconteceu com benomil na ICM, apenas captan continuou apresentando inibição completa até a concentração de 5ppm (Figura2).

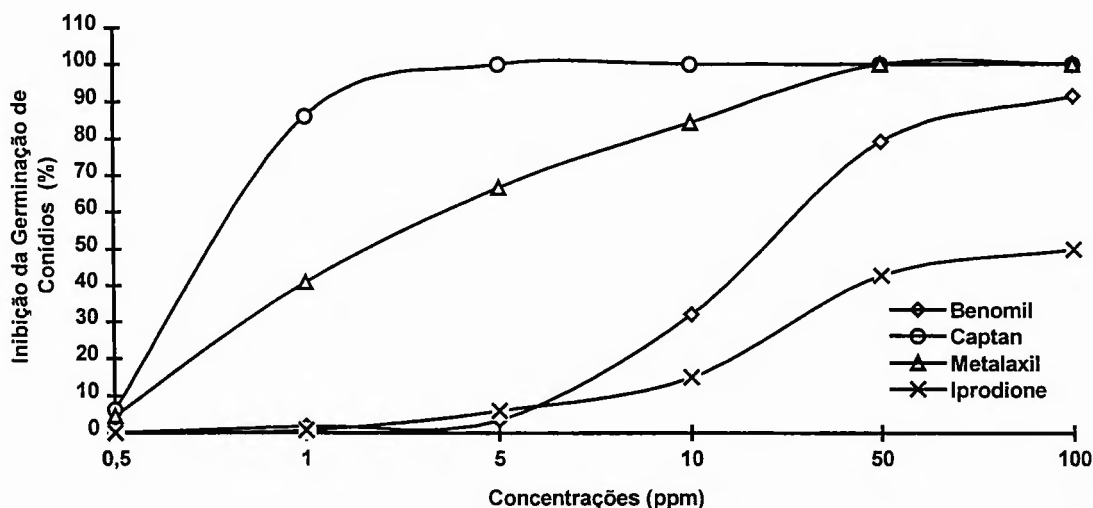


FIGURA 2. Porcentagem de inibição da germinação de conídios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* por quatro fungicidas (benomil, captan, metalaxyl e iprodione) em seis concentrações (0,5; 1,0; 5,0; 10; 50 e 100 ppm).

DISCUSSÃO

Dos fungicidas empregados no teste de inibição do crescimento micelial, em condições de laboratório, benomil mostrou-se muito eficiente e, portanto, bastante promissor

no controle deste fitopatógeno. Este fungicida sistêmico é indicado, principalmente para tratamento de sementes, já tendo sido estudado por diversos pesquisadores (Bienh e Dimond, 1970; Damiconi, Cooley e Manning,

1981; Ferreira, 1983; Magie, 1971, McRitchie, 1971; Oliveira e Bolkan, 1981), os quais obtiveram bons resultados no controle de diferentes formas especializadas de *Fusarium oxysporum*, tanto *in vitro* como aplicado no solo ou na semente.

Vale lembrar que a espécie *F. oxysporum* pertence a família Tuberculariaceae, ordem Moniliales. De acordo com Bollen e Fuchs (1970), as espécies da ordem Moniliales com conidiogênese do tipo aleurospórica, blastospórica e fialospórica tem apresentado alta sensibilidade ao benomil. Também segundo Agrios (1988), benomil é um fungicida efetivo contra as espécies do gênero *Fusarium*. Oliveira e Bolkan (1981) observaram que benomil inibiu completamente o crescimento micelial de outra forma especializada de *F. oxysporum in vitro*, a partir de 10 ppm, enquanto que, neste trabalho o FOP, foi inibido a partir da concentração de 5ppm.

O conhecimento dos mecanismos de ação dos fungicidas não é apenas importante de um ponto de vista puramente científico, mas é também um pré-requisito necessário para a própria avaliação de sua toxicologia geral (Sijpesteijn, 1977). Em adição, o conhecimento do modo de ação pode, em muitos casos, ajudar a elucidar porque determinados grupos de fungos são tolerantes a certos fungicidas e suscetíveis a outros. Benomil e outros fungicidas do grupo dos benzimidazóis interferem principalmente na síntese dos ácidos nucléicos e, com isso, inibem o processo de mitose impedindo a divisão celular (Sijpestein, 1977; Davidse, 1988). Captan e outros fungicidas similares reagem com grupos amino e outros ainda não especificados. O mecanismo de ação destes fungicidas envolve inibição de enzimas em muitos níveis do metabolismo celular (Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior, 1983).

O fato de benomil ser menos eficiente na inibição da germinação de conídios do que na inibição do crescimento micelial deve-se, provavelmente, ao tipo de mecanismo de atuação deste fungicida, que é na divisão celular, não tendo sido encontrado registros de que ele seja forte inibidor da germinação de conídios. Enquanto isso captan foi mais eficiente na IGC o que se deve, provavelmente, a propriedade que os fungicidas de seu grupo possuem de atuarem principalmente inibindo a germinação de conídios ou no desenvolvimento do tubo germinativo dos fungos (Associação

Brasileira de Educação Agrícola Superior, 1983).

Apesar da alta eficiência apresentada por benomil na inibição do crescimento micelial e captan na inibição da germinação de esporos de FOP, quando testados em condições de casa-de-vegetação, em experimento de controle químico e biológico, com isolados de *Trichoderma* spp., estes dois fungicidas foram pouco eficientes no controle do fungo tanto aplicados ao sulco de plantio como aplicados na semente. Benomil, aplicado ao solo, propiciou uma redução da severidade da doença (RSD) de 30% e de 31,8%, quando aplicado na semente. Captan só foi aplicado no solo e apresentou apenas 12,9% de RSD.

ABSTRACT

Benomyl, captan, iprodione and metalaxyl, at 0.5, 1.0, 5.0, 10, 50 and 100 ppm of active ingredient (a.i) were tested *in vitro* for inhibition of micelial growth and spore germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Benomyl inhibited the micelial growth from 5% of a.i. showing an average of 72.3%, and it inhibited completely the micelial growth from 5% of a.i. Captan inhibited the spore germination from 5% dosage of a.i. presenting an average of 82.1% of spore germination inhibition.

Key-words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, fungicides, chemical control.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 AGRIOS, G. N. Plant pathology. 3. ed. New York, Academic Press, 1988. 826 p.
- 2 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO AGRÍCOLA SUPERIOR. Os defensivos agrícolas: utilização, toxicologia e legislação específica. Módulo 3 - fungicidas. Brasília, 1983. 33 p.
- 3 BOLLEN, G. J. ; FUCHS, A. On the specificity of the *in vitro* and *in vivo*, antifungal activity of benomil. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. Amsterdam, v. 76, p. 299-312, 1970.
- 4 BIENH, W. L. ; DIMOND, A. E. Reduction of tomato *Fusarium* wilt symptoms and correlation with a bioassay of fungitoxicant in benomil-treated-plants. *Plant Disease Reporter*. Beltsville, v. 54, n. 1, p. 12-14, 1970.
- 5 DAMICONI, J. P. ; COOLEY, D. R. ; MANNING, W. J. Benomyl in acetone eradicates *Fusarium moniliforme* and *Fusarium oxysporum* from

- asparagus seed. **Plant Disease**. St. Paul, v. 65, n. 11, p. 892-893, 1981.
- 6 DAVIDSE, L. C. Benzimidazole fungicides: Mechanism of action and resistance. In: DELP, C. J. (Ed.). **Fungicide resistance in North America**. St. Paul, APS-Press, 1988. p. 25-27.
- 7 EDINGTON, L. V. ; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic expectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**. St. Paul, v. 61, n. 1, p. 42-44, 1971.
- 8 FERREIRA, R. G. População fúngica em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), fontes de resistência e controle químico a *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder. Recife, 1983. 109 p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1983.
- 9 HAGEDORN, D. J. *Fusarium yellows*. In: HALL, R. **Compendium of bean diseases**. St. Paul : APS-Press, 1991. p. 20.
- 10 KENDRICK, J. B. ; SNYDER, W. C. *Fusarium yellows* of beans. **Phytopathology**, Lancaster, v. 32, n. 11, p. 1010-1014, 1942.
- 11 KRAFT, J. M. ; BURKE, D. W. ; HAGLUND, W.A. *Fusarium* diseases of beans, peas and lentils. In: NELSON, P. E. ; TOUSSOUN, T. A.; COOK, R. J. (Eds.). ***Fusarium*: Diseases, biology and taxonomy**. Pensylvania: The Pensylvania State University Press, 1981. p. 142-156.
- 12 MAGIE, R. O. Effectivness of treatments with hot water plus benzimidazoles and ethephon in controlling *Fusarium* diseases of gladiolus. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 55, n. 1, p. 82-85, 1971.
- 13 McRITCHIE, J. J. Pathogenicity and control of *Fusarium oxysporum* wilt of variegated *Pyracantha*. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 55, n. 8, p. 687-691, 1971.
- 14 MENEZES, M. Considerações sobre o gênero *Fusarium*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 8, n. 3, p. 517, 1983.
- 15 OLIVEIRA, M. Z. A.; BOLKAN, H. A. Sensibilidade "in vitro" do micélio de *Botryodiplodia* sp, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* e *Phomopsis sojae*, a quatro fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6,n. 3, p. 594, 1981.
- 16 SIJPESTEIJN, A. K. Effects on fungal pathogens. In: MARSH, R. In: W. **Systemic fungicides**. 2. ed. London: Longman, 1977. p. 131-159.
- 17 SNYDER, W. C. ; TOUSSON, T. A. Current status of taxonomy in *Fusarium* species and their perfectges. **Phytopathology**, Lancaster, v. 80, p. 321-339, 1965.
- 18 VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa : UFV, Imprensa universitária, 1988. 231 p.