

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FLORESTAIS E DA MADEIRA

BÁRBARA FAVALESSA ALMEIDA

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE FUNGICIDAS E DE ADUBOS
FOLIARES NO CONTROLE “*IN VITRO*” DE *Botrytis cinerea*

JERÔNIMO MONTEIRO

ESPÍRITO SANTO

2015

BÁRBARA FAVALESSA ALMEIDA

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE FUNGICIDAS E DE ADUBOS
FOLIARES NO CONTROLE “*IN VITRO*” DE *Botrytis cinerea*

Monografia apresentada ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Willian Bucker Moraes

JERÔNIMO MONTEIRO

ESPÍRITO SANTO

2015

BÁRBARA FAVALESSA ALMEIDA

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE FUNGICIDAS E DE ADUBOS
FOLIARES NO CONTROLE “*IN VITRO*” DE *Botrytis cinerea*

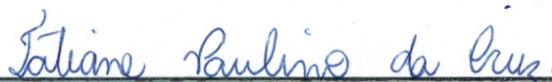
Monografia apresentada ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira da Universidade Federal do Espírito Santo, com requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Florestal.

Aprovada em 11 de dezembro de 2015.

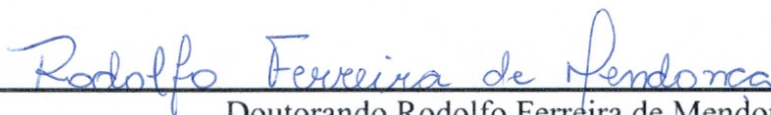
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Willian Bucker Moraes
Orientador
Universidade Federal do Espírito Santo



Doutoranda Tatiane Paulino da Cruz
Examinadora
Universidade Federal do Espírito Santo



Doutorando Rodolfo Ferreira de Mendonça
Examinador
Universidade Federal do Espírito Santo

"A mente que se abre a uma nova ideia, jamais voltará ao seu tamanho original."

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus por ter me abençoado com sabedoria, sendo minha força e proteção nessa caminhada.

Aos meus amados pais, Jovilde e Marcos, pelo amor incondicional, apoio e dedicação em todos os momentos.

À minha irmã, Júlia, por estar sempre comigo.

Ao meu namorado, Fabio, pelo amor, compreensão, carinho e por todo apoio nesses anos, dividindo inúmeros momentos e emoções juntos.

Aos meus grandes amigos, Fernanda Marin, Maria Julia Paganini, Carla Basílio, Cecília Neves, Romulo Lírio, Guilherme Moro, Ana Clara Caou, Luciane Naimeke, Letícia Mayara, Nathan Bruno, Tais Rizzo, Marcos Lagaas, e Luan Mendes, a quem serei eternamente grata por compartilharem comigo momentos inesquecíveis. Vocês são para sempre.

Às minhas companheiras e irmãs de república, Ingrid Almeida e Joyce Alvaristo, por todos os momentos juntas dia-a-dia.

À minha querida turma de Floresta 2010/1, por me proporcionarem momentos tão divertidos e por todas as experiências compartilhadas.

Ao meu orientador, Willian Bucker Moraes, pela confiança, dedicação e pelos conhecimentos repassados, contribuindo na minha formação profissional e pessoal.

À Universidade Federal do Espírito Santo por oferecer estruturas e bases necessárias para minha formação profissional.

Ao Laboratório de Epidemiologia e Manejo de doenças de Plantas (LEMP) por me conceder estruturas para a execução desse trabalho.

Aos meus companheiros de laboratório pela ajuda e crucial apoio, Tatiane Paulino, Kaique Alves, Rodolfo Mendonça e todos os colegas que indiretamente contribuíram com este trabalho. Muito obrigada.

Aos membros da banca examinadora, Tatiane Paulino e Rodolfo Mendonça, por aceitarem participar desse momento e compartilhar suas ideias.

Aos outros amigos que conquistei nesses anos em Alegre, meus mais sincero carinho e amizade.

RESUMO

A importância da eucaliptocultura no Brasil é devido à boa adaptabilidade às condições edafoclimáticas, e à possibilidade de uso múltiplo da madeira para papel e celulose, laminados, compensados, construção civil, carvão vegetal e produção de móveis. Entretanto, os plantios de essência florestal são afetados por inúmeras doenças, causadas por fungos e bactérias, além de problemas abióticos resultantes do manejo e, ou, do ambiente inadequado, o que torna um fator limitante para sua expansão. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar o potencial fungitóxico de fungicidas comerciais e adubos minerais sobre o fungo *Botrytis cinerea*. Foram usadas concentrações de 25%, 50%, 75%, 100% e 150% calculadas a partir da dose recomendada de cada produto, incorporados em meio BDA fundente e posteriormente discos de micélio do fungo foram depositados no centro da placa. Avaliou-se o efeito dos produtos no crescimento micelial, na esporulação do patógeno e na eficiência relativa dos mesmos. Os fungicidas Azoxistrobina+Ciproconazol e Mancozeb inibiram 100% o crescimento micelial e a esporulação do fungo, apresentando-se altamente eficientes no controle. Sobre o raio médio do crescimento micelial, o mineral Copper apresentou melhor resultado na concentração de 75%, e o Nicomo Dry apresentou menor valor na concentração de 100%, ambos resultados diferiram da testemunha. Melhores resultados nos tratamentos com Copper foram apresentados nas concentrações de 150%, e 25% e 50% no tratamento com Nicomo Dry, diferindo da testemunha. Os fungicidas Azoxistrobina+Ciproconazol e Mancozeb foram eficientes em todas as concentrações, inibindo o crescimento micelial e esporulação do fungo, e o minerais utilizados Copper e o Nicomo Dry apresentaram menor eficiência, porém resultou num decréscimo do crescimento micelial e da esporulação em relação à testemunha.

Palavras-chave: Efeito fungitóxico, crescimento micelial, controle químico

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE QUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivos	2
1.1.1 Objetivo geral	2
1.1.2 Objetivos específicos	2
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Importância da cultura.....	3
2.2 Patógeno.....	4
2.3 Manejo da doença.....	5
3 METODOLOGIA	7
3.1 Obtenção e isolamento de <i>B. cinerea</i>	8
3.2 Efeito fungitóxico no crescimento micelial radial de <i>B. cinerea</i>	8
3.3 Efeito fungitóxico na esporulação de <i>B. cinerea</i>	9
3.4 Cálculo de eficiência relativa	9
3.5 Delineamento experimental.....	9
3.6 Análise de dados	10
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
4.1 Efeito fungitóxico no crescimento micelial do <i>B. cinerea</i>	10
4.2 Efeito fungitóxico na esporulação do <i>B. cinerea</i>	14
5 CONCLUSÃO	17
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Relação dos produtos com suas respectivas doses comerciais e concentrações utilizadas.	8
Tabela 2: Raio médio do crescimento micelial (cm) de <i>Botrytis cinerea</i> , em resposta ao uso de diferentes concentrações dos produtos.	11
Tabela 3: Número médio de esporos produzidos por <i>Botrytis cinerea</i> em resposta a uso de diferentes concentrações.	14

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Descrição dos produtos, ingrediente ativo, concentração, tipo de formulação, dosagem (produto comercial) e forma de aplicação.....	7
--	---

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Valores obtidos pela fórmula de Eficiência Relativa (%) para diferentes concentrações dos produtos testados no crescimento micelial de *Botrytis cinerea*. 12
- Figura 2. Efeito das concentrações de Copper no crescimento micelial de *Botrytis cinerea*. 13
- Figura 3. Efeito das concentrações de Nicomo dry no crescimento micelial de *Botrytis cinerea* 13
- Figura 4. Efeito das concentrações de Nicomo dry na esporulação de *Botrytis cinerea* 16
- Figura 5. Efeito das concentrações de Copper no crescimento micelial de *Botrytis cinerea* 16

1 INTRODUÇÃO

A área plantada com árvores no Brasil atingiu 7,74 milhões de hectares em 2014, crescimento de 1,8% na comparação com os 7,6 milhões de hectares de 2013. Os plantios de árvores de eucalipto representaram 71,9% desse total, com cerca de 5,56 milhões de hectares (IBA, 2015).

Considerada uma das mais importantes essências florestais do país, a cultura de eucalipto constitui-se em fonte de energia e madeira renovável, além de suportar importantes processos agroindustriais para produção de papel, celulose e essências (FURTADO et al., 2008)

Até a década de 70, o eucalipto era considerado uma essência florestal praticamente livre de doenças (MASSON et al., 2011). No entanto, condições favoráveis à ocorrência de doenças, surgiram juntamente com o avanço das áreas reflorestadas para regiões mais quentes e úmidas, o plantio de espécies mais suscetíveis e a utilização repetitiva de uma mesma área para plantio (FURTADO et al. 2008; JUNGHANS, 2000).

Dentre várias doenças que causam danos e perda em plantios de eucalipto, a seca da haste ou mofo cinzento, causados pelo fungo *Botrytis cinerea*, relatada no Brasil pela primeira vez no ano de 2002 (LIMA, 2002), é o principal problema fitossanitário da cultura. A doença é caracterizada, principalmente, pela ocorrência de lesões na região do colo a qual pode se estender no hipocótilo, apresentando aspecto encharcado no início e depois adquirindo coloração escura, resultante da degradação dos tecidos que provoca o tombamento e a morte da muda (SILVA; COELHO, 2003).

Sua ocorrência concentra-se principalmente na região Sul e Sudeste do Brasil, em viveiros e casa de vegetação, mas também é possível encontra-la em árvores jovens (FURTADO et al., 2009).

O manejo da doença se baseia, fundamentalmente, na utilização do controle químico, entretanto, a variabilidade genética existente na população do patógeno e o uso excessivo de fungicidas, principalmente benzimidazoles e dicarboximidas, podem selecionar isolados resistentes do patógeno (MARTINEZ et al., 2003; RAPOSO et al,

1996). Na eucaliptocultura brasileira esta estratégia de controle se torna ilegal, visto que não existe nenhum produto químico registrado para esta doença (ALFENAS et al., 2004).

Alguns produtos como os fertilizantes contendo fósforo e silício estão entre muitos produtos citados na literatura e utilizados principalmente no manejo como indutores de resistência (BIZI, 2006). Outros na forma de fosfitos e silicatos ganharam importância, não por sua eficiência em induzir proteção contra algumas doenças, mas talvez por serem alternativas que, além de conferir resistência também proporcionam benefícios nutricionais e incrementam a produção e a qualidade dos produtos (NOJOSA, 2002).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial fungitóxico de fungicidas comerciais e adubos minerais sobre o fungo *Botrytis cinerea*

1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito dos diferentes fungicidas comerciais e adubos minerais no crescimento micelial do fungo *B. cinerea* em vários níveis de concentração.
- Avaliar o efeito dos diferentes fungicidas comerciais e adubos minerais na esporulação do *B. cinerea* em vários níveis de concentração.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da cultura

O gênero *Eucalyptus* pertence à Divisão Angiospermae, Classe Dicotyledonea, Ordem Myrtales e família Myrtaceae, com muitas espécies, subespécies e alguns híbridos naturais, sendo também conhecidas as variedades fenotípicas intraespecíficas decorrentes de condições ambientais ou da hibridação (BERTOLUCCI et al., 1995).

Com aproximadamente 700 espécies, este gênero é destaque quando comparado a outros gêneros florestais por este alto número de espécies e apesar da grande variedade, as espécies mais plantadas no mundo são *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla*, *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. globulus*, *E. nitens*, *E. saligna*, *E. dunnii* e *E. pellita*, que associado aos híbridos, somam 90% dos plantios de eucalipto (HARWOOD, 2011; BOOTH, 2013)

Sua grande relevância no setor florestal, é devido a sua grande adaptabilidade a diversas condições edafoclimáticas, e alto potencial como matéria prima para a indústria madeireira e a produção de celulose e papel (SILVA et al., 2014).

A área de plantio de *Eucalyptus* no Brasil em 2014 era de aproximadamente 5,6 milhões hectares e, na sua distribuição, o segmento de papel e celulose concentra 34,0% da área plantada, seguido por produtores independentes e fomentados (26,8%), siderurgia e carvão vegetal (15,2%) e painéis de madeira industrializada (6,8%) Os estados que concentram cerca de 85% dessa área de plantio no país são Minas Gerais, São Paulo, Bahia, Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Sul, Espírito Santo e Paraná (IBA, 2015).

O crescimento destas florestas plantadas é maior na região sudeste do Brasil, resultando em 53% do total dos plantios nacionais, sendo Minas Gerais e São Paulo os maiores produtores, entretanto, em 2012, com os investimentos realizados por empresas nacionais do segmento de Papel e Celulose, houve um aumento da área plantada de *Eucalyptus* nos estados do Mato Grosso do Sul (19,0%) e Tocantins (39,9%) (IBA, 2015).

Em 2014, o setor de árvores plantadas fechou o ano representando 5,5% do PIB industrial e 1,1% de toda riqueza gerada no País. Em termos marginais, cada hectare de árvores plantadas adicionou R\$ 7,8 mil ao PIB nacional, em 2014. Para efeito de comparação, o complexo soja – importante referência nacional – adicionou R\$ 4,9 mil/ano por hectare plantado, enquanto a pecuária, R\$ 2,7 mil/ano (IBA, 2015).

2.2 Patógeno

O agente causal, *Botrytis cinerea* Pers. Fr. (teleomorfo *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel), é um patógeno necrotrófico com uma ampla gama de hospedeiros podendo infectar, além de *Eucalyptus* spp, mais de 200 espécies de plantas (SALLA, 2014).

Este fungo pode sobreviver saprofiticamente ou por meio de estruturas de repouso denominadas escleródios ou micélios dormente (KRUGNER; AUER, 2005). Os conídios de *Botrytis cinerea* são diminutos, secos, e sua disseminação se dá principalmente pelo transporte através do vento, água ou insetos (SILVA; COELHO 2003).

B. cinerea penetra direta ou indiretamente nos tecidos do hospedeiro, não havendo necessidade de ferimentos, porém as epidemias são mais severas quando o material está fisiologicamente debilitado e/ou com ferimentos (ALFENAS et al., 2009). Condições de temperatura entre 15 e 25°C, dias curtos e nublados com alta umidade (90%) e baixa luminosidade, além de precárias condições de higiene e manejo em viveiro são favoráveis ao desenvolvimento desse fitopatógeno.

Em viveiros clonais de eucalipto a doença caracteriza-se pela morte de plantas em reboleiras ou distribuídas aleatoriamente no canteiro (CAIRES, 2013). A ocorrência de lesões na região do colo com aspecto encharcado no início e posteriormente o aparecimento de uma coloração enegrecida, resultante da degradação dos tecidos, são os principais sintomas encontrados, o que acarretará no tombamento e morte da muda (KRUGNER; AUER, 2005; ALFENAS et al., 2004). Em folhas, os sintomas começam pelo enrolamento da lâmina foliar, seguido da morte e queda destas. As lesões apresentam-se recobertas por uma massa acinzentada formada pelo

micélio, conidióforos e conídios do fungo, além de manchas aquosas e amarronzadas (WILLIAMSON et al., 2007). Após a colonização, ocorre a disseminação para as mudas mais próximas, levando o patógeno para as fases subsequentes a produção, causando grandes perdas (FURTADO et al., 2001).

A doença manifesta-se também nas fases de desenvolvimento e rustificação das mudas, anelando a haste na altura do terço inferior até variáveis alturas, criando um sintoma denominado de “canela preta”, cuja haste se torna facilmente quebradiça, o que pode acarretar grandes perdas de mudas no viveiro e no pós-plantio (BIZI, 2006). Quando não há um prévio conhecimento sobre a doença e não realiza-se a exclusão de mudas doentes, estas vão para campo e morrem, o que leva à necessidade do replantio (FURTADO et al., 2000).

Apesar da importância econômica dessa doença para a eucaliptocultura, informações sobre a interação de *B. cinerea* com esta espécie florestal não são conhecidas, tornando-se necessário um entendimento do processo de patogênese, do tempo de ocorrência das fases de penetração, colonização e reprodução e tornando assim o uso de produtos químicos e outras medidas de manejo mais eficientes (CAIRES, 2013)

2.3 Manejo da doença

O controle químico é a principal medida de controle de *B. cinerea* na maioria dos hospedeiros, entretanto, o uso excessivo de fungicidas e a variabilidade genética existente na população do patógeno podem selecionar isolados resistentes aos princípios ativos de muitos fungicidas utilizados para o controle (MARTINEZ et al., 2003). Principalmente em viveiros, o controle químico de doenças de eucalipto não pode ser recomendado, pela falta de produtos registrados para esta cultura (KRUGNER; AUER, 2005).

Alguns fungicidas são encontrados na literatura como forma de controle da doença em eucalipto: Iprodione e mancozeb (REYNA; ROMERO, 2001); captan, dicloran ou chlorothalonil (FERREIRA; MILANI, 2002); vinclozolin, epoxyconazole, triadimenol, tebuconazole, epoxyconazole + pyraclostrobin, captan, thiram, iprodione (ALFENAS

et al., 2009). Em videiras, os produtos recomendados para o controle de *B. cinerea* são: vinclozolina, iprodione, e tiofanato metílico (Valdebenito-Sanhueza et al., 1996). O fungicida pyrimethanil também foi relatado como eficiente no controle do *B. cinerea* das flores (MIRANDA et al., 2001).

Em culturas no campo, fungicidas protetores como captan, dichlofluanid, chlorotalonil, dicloran, dithiocarbamatos, e particularmente thiran, foram usados em pulverizações no controle do mofo cinzento do morango (KIMURA et al., 2001).

Em 1971, relatou-se primeiro caso de resistência de *B. cinerea* a fungicidas sistêmicos, no caso benzimidazóis (tiofanato metílico, benomil) (BOLLEN; SCHOLTEN 1971), posteriormente relatos de resistência a dicarboximidas (iprodiona, procimidona, vinclozolin) (KATAN, 1982), ciprodinil (FORSTER; STAUB 1996), pirimetanil (LEROUX et al., 1999), fenehexamida (BAROFFIO et al., 2003) e piraclostrobina (MYRESIOTIS et al., 2008) foram descritos. No Brasil, resistência de isolados de eucalipto a benomil (SILVA;COELHO 2003) e de roseiras a iprodiona, boscalida e tiofanato metílico também foram descritos (SILVERA-PEREZ, 2013).

Devido a possível ineficiência do controle químico pelo uso contínuo de um mesmo produto, a associação desse método a um programa integrado de controle, como por exemplo, o uso alternado de diferentes produtos e o emprego de medidas profiláticas são de extrema importância (BROWN; FERREIRA, 2000).

Estratégias como o uso de material, substrato e água de irrigação livres de patógenos; uso de canteiros suspensos; desinfecção dos instrumentos de corte do viveiro; seleção e descarte de plantas doentes e/ou mortas; adubação adequada e também o uso de um sistema adequado de irrigação devem ser integradas as medidas de manejo da doença (AUER et al., 2003).

Para controle dessa doença em viveiros, não recomenda-se o uso do controle por resistência de plantas, ou seja, seleção de mudas resistentes a doença com base em inoculações artificiais ou surtos naturais (FERREIRA, 1989). Isso por que toda a variabilidade genética da planta deve ficar reservada para solucionar problemas que podem ocorrer no campo, como controle de doenças bióticas, controle de pragas, melhoramento que vise a produtividade e qualidade do produto final (SILVA, 2003).

3 METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas, do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), situado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), localizado no município de Alegre – ES.

Para a execução deste trabalho, foram utilizados os produtos conforme apresentados no quadro abaixo:

Quadro 1. Descrição dos produtos, ingrediente ativo, concentração, tipo de formulação, dosagem (produto comercial) e forma de aplicação.

Produtos	Ingrediente Ativo	Grupo químico	Concentração(g/L)	Dosagem P.C. mL/ha	Forma de aplicação
Priori Xtra	Azoxistrobina e Cyproconazol	Estrobilurina + Triazóis	200+80	0,23 *	Sistêmico
Manzate	Mancozebe	Dimetilditiocarbonato	750 g/kg	1,17*	Granulado Dispersível
Copper	Cobre	Fertilizante Foliar	-	0,08*	-
Nicomo dry	Silício	Fertilizante Foliar	-	0,08*	-

*Dosagem sugerida pelo fabricante

As concentrações utilizadas para avaliar o efeito fungitóxico do produtos utilizados, foram calculadas a partir da dose comercial, conforme apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Relação dos produtos com suas respectivas doses comerciais e concentrações utilizadas.

	Dose comercial (mL)	Concentrações (mL)				
		25%	50%	75%	100%	150%
Azoxistrobina +Ciproconazol	0,23	0,06	0,11	0,17	0,23	0,34
Mancozeb	1,17	0,29	0,58	0,87	1,17	1,75
Copper	0,08	0,02	0,04	0,06	0,08	0,12
Nicomo dry	0,08	0,02	0,04	0,06	0,08	0,12

3.1 Obtenção e isolamento de *B. cinerea*

Os isolados de *Botrytis cinerea* foram obtidos a partir de tecido lesionado de mudas de eucalipto apresentando sintomas típicos da doença. Foram retirados fragmentos de tecidos e colocados em placas de petri contendo meio BDA (batata-dextrose-água), o procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar. As placas foram colocadas em BOD regulada a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, foto período de 12 horas onde permaneceram por 10 dias.

3.2 Efeito fungitóxico no crescimento micelial radial de *B. cinerea*

Para se verificar o efeito dos produtos utilizados sobre o crescimento micelial, concentrações de 25%, 50%, 75%, 100% e 150% da dose comercial dos produtos foram incorporados ao meio BDA ainda fundente. Posteriormente o meio contendo o produto foi transferido para placa de petri de 9 cm de diâmetro. Em seguida, um disco de 1 cm de diâmetro do meio de cultura contendo micélio de *B. cinerea* com 10 dias de incubação foi transferido para o centro das placas contendo uma das concentrações mencionadas anteriormente dos diferentes produtos químicos.

As placas foram seladas com papel aderente, identificadas e incubadas em estufa tipo BOD sob fotoperíodo de 12h à temperatura de 25°C (SALGADO et al., 2003). A avaliação do experimento teve início 48h após sua instalação, realizando-se

medições ortogonais do diâmetro das colônias diariamente, sendo que cada medição correspondeu à média de quatro medidas diametralmente opostas da colônia fúngica, tendo como referência as placas testemunhas (BALBI-PEÑA et al., 2006). O crescimento foi avaliado até que a testemunha completasse todo o diâmetro da placa.

3.3 Efeito fungitóxico na esporulação de *B. cinerea*

Após a avaliação do crescimento micelial de *B. cinerea*, realizou-se a contagem de esporos. Para isso, foi preparada uma suspensão de esporos, para cada tratamento, através da adição de 20 mL de água destilada às placas de Petri.

Com o auxílio de uma alça de Drigalsky, realizou-se uma leve fricção da colônia fúngica, de modo que fossem liberadas as estruturas reprodutivas do fungo do meio de cultura. A suspensão obtida foi despejada em copo tipo béquer e homogeneizada, em seguida, quantificada o número de esporos com o auxílio de uma câmara de Neubauer (hemacitômetro).

3.4 Cálculo de eficiência relativa

A Eficiência Relativa (ER) foi calculada pela fórmula adaptada de Henderson e Tilton (1955),

$$ER = (1 - P/T) * 100$$

em que: P – média crescimento micelial para cada tratamento avaliado, T – Média crescimento micelial da Testemunha.

3.5 Delineamento experimental

Para estudar o efeito dos produtos químicos e minerais sobre o crescimento micelial e a esporulação do fitopatógeno, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x5+1, (quatro produtos químicos, cinco concentrações e uma testemunha adicional) composto de cinco repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa de petri.

3.6 Análise de dados

Os dados do crescimento micelial e da germinação de esporos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) a 5% e as médias comparadas pelo Teste de Tukey.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito fungitóxico no crescimento micelial do *B. cinerea*

Com a aplicação de diferentes concentrações dos produtos fungicidas Azoxistrobina+Ciproconazol e Mancozeb, o crescimento micelial do fungo foi totalmente inibido, não havendo diferença entre as concentrações utilizadas para ambos produtos, comprovando a eficiência já demonstrada por alguns autores.

Ao comparar os produtos entre si podemos observar que de acordo com a tabela 2 houve diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e que os fungicidas comerciais apresentaram melhores resultados do que os minerais testados.

Nas concentrações de 25%, 50% e 75% o Nicomo Dry não diferiu estatisticamente da testemunha mostrando que o produto não inibiu o crescimento micelial comparado a condições na ausência do mesmo.

As concentrações de 100% e 150% os produtos Copper e Nicomo dry não diferiram estatisticamente entre si, porém os dois tratamentos citados diferiram estatisticamente da testemunha, apresentando menores valores do raio médio do crescimento micelial como demonstrado na tabela 2.

Tabela 2: Raio médio do crescimento micelial (cm) de *Botrytis cinerea*, em resposta ao uso de diferentes concentrações dos produtos.

Tratamentos	Concentrações (%)				
	25%	50%	75%	100%	150%
Azoxistrobina+Ciproconazol	0 c	0 c	0 c	0 c	0 c
Mancozeb	0 c	0 c	0 c	0 c	0 c
Copper	4,15 b	3,8 b	3,52 b	4,14 b	4,28 b
Nicom dry	4,42 a	4,33 a	4,22 a	4,07 b	4,17 b
Testemunha	4,66 a	4,66 a	4,66 a	4,66 a	4,66 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Segundo Dias (2010), o *B. cinerea* apresentou-se sensível ao grupo da Estrobilurinas, no qual agem na inibição da respiração, reduzindo de 50 a 74% o crescimento micelial do fungo em teste *in vitro* nas menores concentrações e inibindo 100% do crescimento micelial nas maiores concentrações utilizadas. Resultados semelhantes foram encontrados por Kimura et al (2001), em que o Cyproconazol e outros triazóis apresentaram alta fungitoxicidade ao crescimento micelial de *B. cinerea*.

Para Ishii (2004), o fungicida Azoxistrobina é altamente eficiente contra uma gama de patógenos em diversas culturas, isso devido a sua capacidade de inibir o transporte de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c1 na cadeia mitocondrial influenciando na produção de ATP, uma molécula essencial como fonte de energia para o desenvolvimento do fungo.

Na figura 1 observamos a Eficiência Relativa (ER) dos produtos testados, em que os fungicidas Azoxistrobina+Ciproconazol e Mancozeb, apresentaram eficiência de 100% para o crescimento micelial em todas as concentrações testadas. Em contrapartida os adubos minerais copper e Nicomo dry não apresentaram níveis satisfatórios de ER.

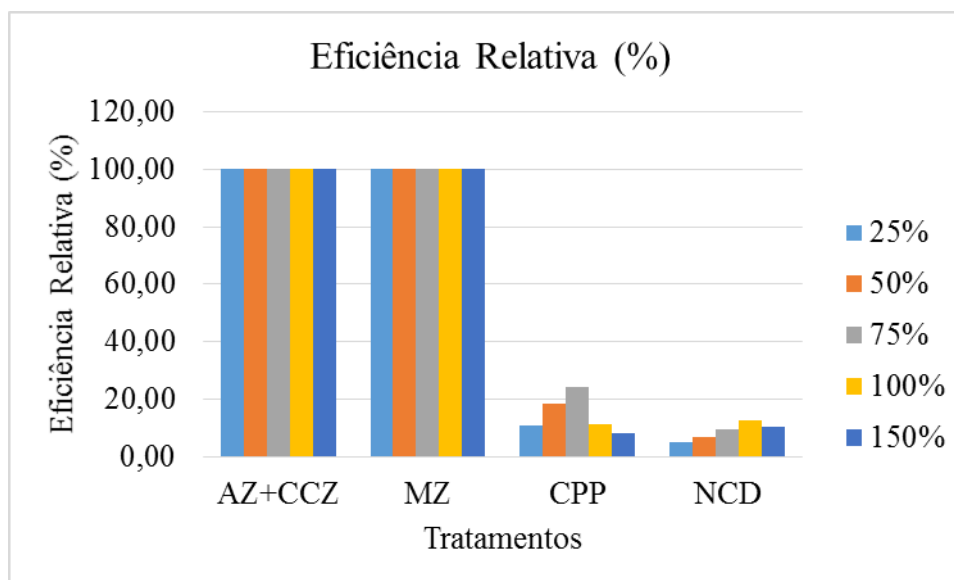


Figura 1. Valores obtidos pela fórmula de Eficiência Relativa (%) para diferentes concentrações dos produtos testados no crescimento micelial de *Botrytis cinerea*. AZ+CCZ: Azoxistrobina+Ciproconazol; MZ: Mancozeb; CPP: Copper; NCD: Nicomo Dry

Fernandes et al (2009), afirmam a utilização de silício no controle fitossanitário como uma alternativa eficiente de controle de doenças, devendo ser utilizada como prática auxiliar.

Em crescimento de *Cylindrocladium* sp. e *Botrytis cinerea* em meio de cultivo com silício, observou-se uma pequena inibição do crescimento micelial nas maiores doses testadas, segundo Silva et al (2010).

De acordo com a figura 2, podemos observar que em relação as concentrações há uma diferença significativa, sendo que até a concentração de 75% houve uma redução do crescimento micelial, porém um aumento ocorreu na concentração de 100% permanecendo na concentração de 150%, isso pode ter ocorrido devido ao enriquecimento do meio com silício, o que pode ter promovido uma condição inóspita para seu desenvolvimento normal, estimulando seu desenvolvimento como mecanismo de sobrevivência.

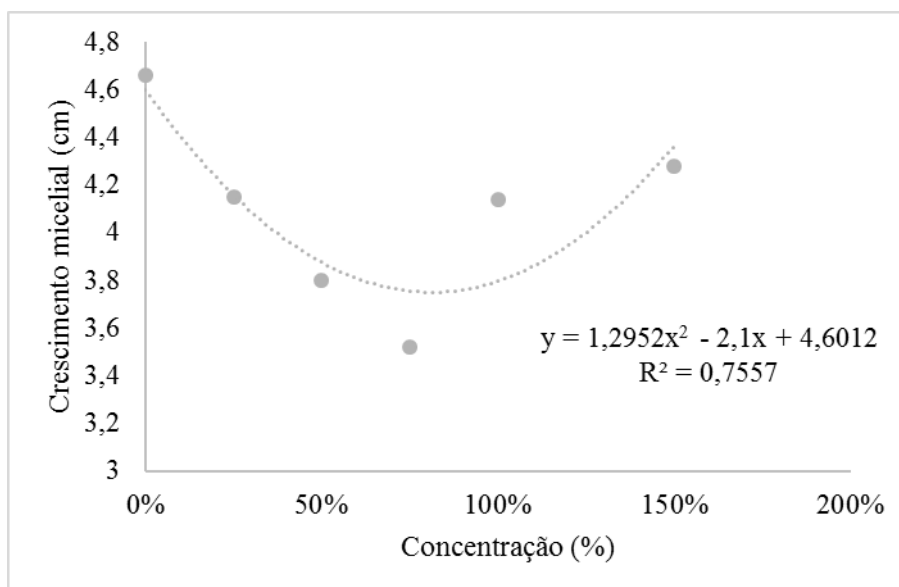


Figura 2. Efeito das concentrações de Copper no crescimento micelial de *Botrytis cinerea*.

Ao analisar o efeito das concentrações do Nicomo dry (Figura 3), observamos que a medida que aumentamos as concentrações ocorre a redução do crescimento micelial, isso pode ser explicado devido a presença do mineral silício.

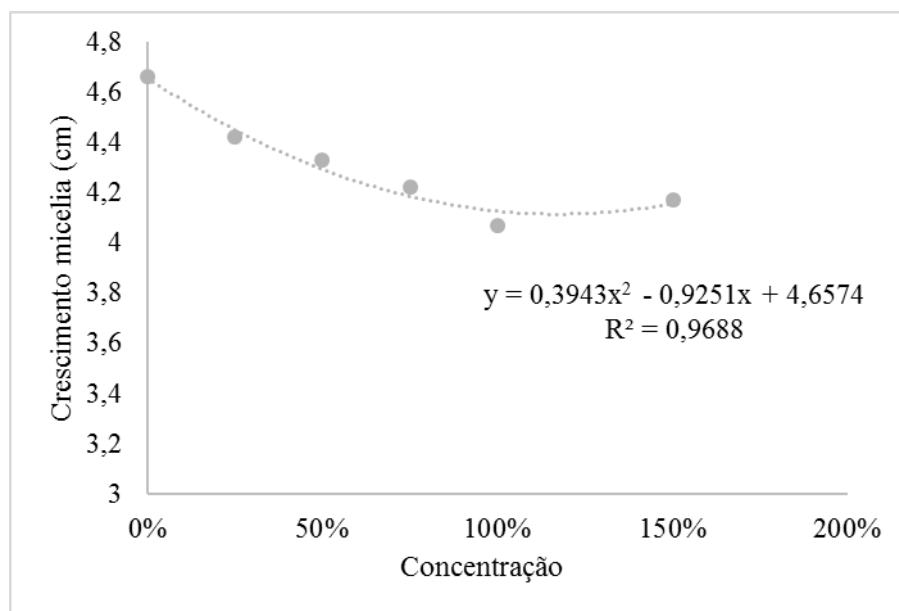


Figura 3. Efeito das concentrações de Nicomo dry no crescimento micelial de *Botrytis cinerea*

4.2 Efeito fungitóxico na esporulação do *B. cinerea*

Os produtos fungicidas Azoxistrobina+Ciproconazol e Mancozeb, mostraram altamente efetivos, inibindo totalmente a esporulação do fungo como pode ser observado na tabela 3.

Na menor concentração, os produtos Copper e Nicomo Dry se diferiram estatisticamente da testemunha, e também entre si, apresentando o melhor resultado no tratamento com Nicomo dry, que não deferiu dos fungicidas nas concentrações analisadas.

Na tabela 3, observa-se que na concentração de 50%, o Copper diferiu estatisticamente da testemunha, porém não houve resultado significativo se comparado ao Nicomo dry. Já nas concentrações de 75%, 100% e 150% diferiram estatisticamente da testemunha, porém não houve diferença estatística entre os produtos minerais testados. Observa-se que não houve diferença estatística entre as concentrações do tratamento com Copper, e a maior concentração foi a que se obteve o menor número médio de esporos.

Tabela 3: Número médio de esporos produzidos por *Botrytis cinerea* em resposta a uso de diferentes concentrações.

Tratamentos	Concentrações (%)				
	25%	50%	75%	100%	150%
Azoxistrobina+Ciproconazol	0 c	0 c	0 c	0 c	0 c
Mancozeb	0 c	0 c	0 c	0 c	0 c
Copper	1,87 b	1,11 b	2,1 b	1,2 b	0,87 b
Nicomo dry	0,7 c	2,21 ab	1,46 b	0,8 b	0,7 b
Testemunha	3,00 a	3,00 a	3,00 a	3,00 a	3,00 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De acordo com Silva et al. (2010), a utilização de silício na redução do crescimento micelial de *Quambalaria eucalypti* foi satisfatória, inibindo cerca de 60%.

Os tratamentos com fungicidas apresentaram níveis satisfatórios de controle para *Botrytis cinerea*, com ER de 100% (Figura 4). Entretanto, os minerais testados não apresentaram níveis acima de 80%, o valor mínimo, e mesmo com a aproximação desde valor, a ER sobre a esporulação do patógeno apresentou-se insatisfatória.

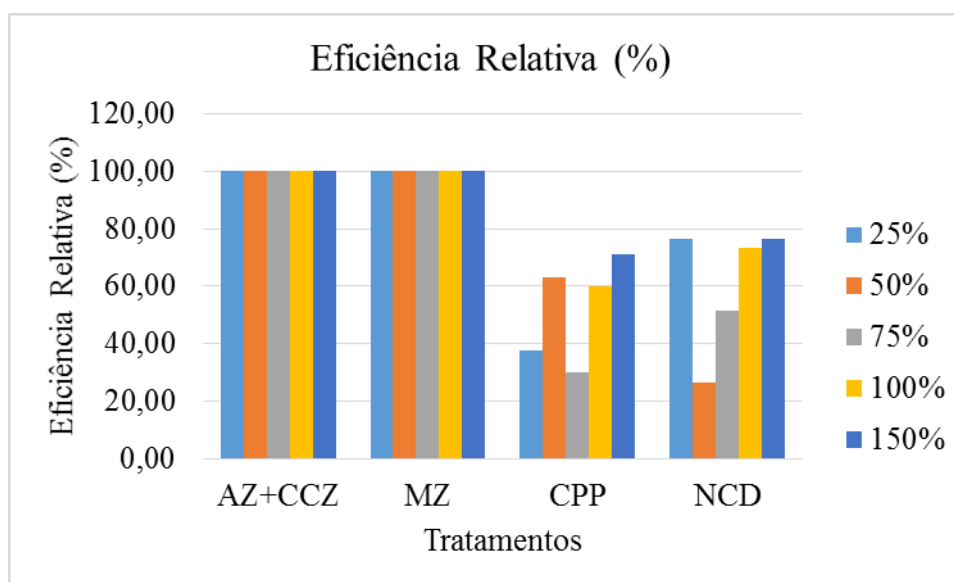


Figura 4. Valores obtidos pela fórmula de Eficiência Relativa (%) para diferentes concentrações dos produtos testados na esporulação de *Botrytis cinerea*. AZ+CCZ: Azoxistrobina+Ciproconazol; MZ: Mancozeb; CPP: Copper; NCD: Nicomo Dry

Kimura et al (2001) afirmam que o fungicida cyproconazole por eles testados, não possuem o efeito erradicante contra o crescimento micelial do *B. cinerea*, isso demonstra que existe algum diferencial na constituição da molécula do triazol, tornando-o mais ativo ou não.

Sobre os efeitos das concentrações de Nicomo dry na esporulação do fungo (figura 4), houve um aumento no número médio de esporos da concentração de 25% para 50%, entretanto, esse número reduz a medida que as concentrações aumentam.

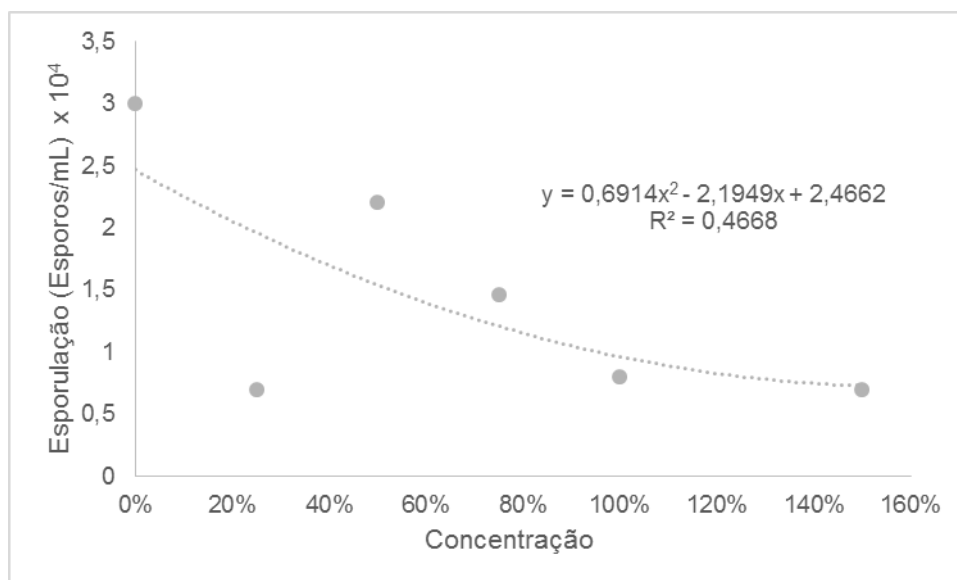


Figura 4. Efeito das concentrações de Nicomo dry na esporulação de *Botrytis cinerea*

O efeito do copper na esporulação do fungo apresentou melhor resultado na maior concentração utilizada, conforme demonstrado na figura 5. Apesar da concentração 75% ter apresentado um maior valor entre as concentrações, não houve diferença estatística entre os mesmos.

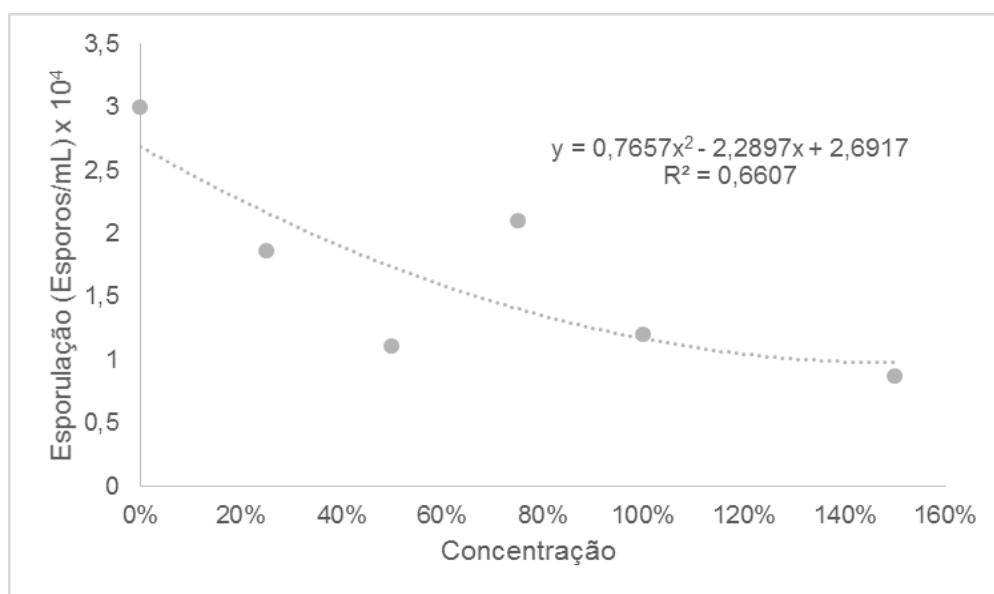


Figura 5. Efeito das concentrações de Copper no crescimento micelial de *Botrytis cinerea*

O teste *in vitro* realizado para avaliar os parâmetros discutidos comprova a eficiência dos produtos fungicidas, que servirão de base para a realização de estudos *in vivo*, em

mudas de eucalipto. Os minerais utilizados podem ser utilizados como indutores de resistência, sendo estudados também testes *in vivo*.

5 CONCLUSÃO

Os fungicidas Azoxistrobina+Ciproconazol e Mancozeb foram eficientes em todas as concentrações na inibição do crescimento micelial e esporulação do fungo.

O Copper apresentou menor eficiência sobre o crescimento micelial nas concentrações de 100% e 150%. Em relação a esporulação, as concentrações de 25% e 75% também não foram eficientes comparado as outras concentrações testadas.

O Nicomo Dry apresentou baixa eficiência na concentração de 150% para o crescimento micelial, e nas concentrações de 50% e 75% em relação a esporulação.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e Doenças do Eucalipto**. Viçosa: UFV, p. 442. 2004. ALFENAS, A.C. et al. Clonagem e doenças do eucalipto. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, 500p, 2009
- ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.V.; MAFIA, R.G.; ASSIS, T.F. **Clonagem e doenças do Eucalipto**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária. 442 p. 2004.
- AUER, C. G.; SANTOS, A. F.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. **Cultivo do Eucalipto**. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto/07_03_mofocinzeno.htm>. Acesso em: 04 dez. 2015.
- BAROFFIO, C. A.; SIEGFRIED, W.; HILBER, U. W. Long-term monitoring for resistance of *Botryotinia fuckeliana* to anilinopyrimidine, phenylpyrrole, and hydroxylanilide fungicides in Switzerland. **Plant Disease** 87:662-666. 2003.
- BERTOLUCCI, F.; REZENDE, G.; PENCHEL, R. Produção e utilização de híbridos de eucalipto. **Silvicultura**, v. 51, p. 12-16, 1995.
- BIZI, R. M. **Alternativas de controle do mofo-cinzeno e do oídio em mudas de eucalipto**. 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2006
- BOLLEN, G. J.; SCHOLTEN, G. Acquired resistance to benomyl and some other systemic fungicides in a strain of *Botrytis cinerea* in cyclamen. **Netherlands Journal of Plant Pathology** .v. 77, p. 83-90. 1971.
- BOOTH, T. H. Eucalypt plantations and climate change. **Forest Ecology and Management**, v. 301, p. 28-34, 2013.
- BROWN, B. N.; FERREIRA, F. A. Diseases during propagation of eucalypts. In: KEANE, P. J.; KILE, G. A.; PODGER, F. D.; BROWN, B. N. Eds. **Diseases and pathogens of Eucalypts**. Collingwood: CSIRO Publish, p. 119-151. 2000
- CAIRES, N. P.; MENDES, V. O. R.; SILVA, M. A.; LISBOA, D. O.; FURTADO, G. Q. **Processo infeccioso de Botrytis cinerea em folhas de eucalipto**. In: 46 Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Ouro Preto-MG. Anais do 46 Congresso Brasileiro de Fitopatologia. v. 1. p. 639-639. 2013.
- CAIRES, N. P. **Processo infeccioso de Botrytis cinerea em folhas de eucalipto**. 2013. 136p. Dissertação (Mestrado) em Fitopatologia Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2013

DIAS, A. C R., **Controle químico de doenças de *Eucalyptus* spp. Em viveiros e seus efeitos morfo-fisiológicos**. 2010. 112p. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu. Botucatu, 2010.

FERNANDES, A. L. T.; MERRIGHI, A. L. N.; SILVA, G. A.; FRAGA JÚNIOR, E. F. F. Utilização do silício no controle de pragas e doenças do cafeeiro irrigado. **Revista Uberaba**, n. 6, p. 11-52, 2009.

FERREIRA, F. A. **Patologia florestal, principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: Ed. Folha de Viçosa, 571p. 1989

FERREIRA, F. A.; MILANI, D. **Diagnose visual e controle das doenças abióticas e bióticas do eucalipto no Brasil**. Mogi-Guaçu, International Paper, 98p. 2002

FORSTER, B., STAUB, T. **Basis for use strategies of anilinopyrimidine and phenylpyrrole fungicides against *Botrytis cinerea***. *Crop Protection* 15:529-537. 1996.

FURTADO, E. L.; SANTOS, C. A. G. dos; TAKAHASHI, S. S.; CAMARGO, F. R. A. de. **Doenças em viveiros de *Eucalyptus* sp**: Diagnóstico e Manejo. Votorantim / Celulose e Papel. Botucatu, SP, p. 23, 2000.

FURTADO, E. L.; SANTOS, C. A. G.; MASSON, M. V. **Impacto potencial das mudanças climáticas sobre a ferrugem do eucalipto no Estado de São Paulo**. In: GHINI, R.; HAMADA, E. Mudanças climáticas: impactos sobre doenças de plantas no Brasil. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p.273-286.

HARWOOD, C. **Introductions: doing it right**. In: Walker, J. (Ed.) HIBBERD, J.M., WHITBREAD, R., FARRAR, J.F. Effect of 700 μmol per mol CO_2 and infection of powdery mildew on the growth and partitioning of barley. *New Phytologist*, 1348, 309-345, 1996.

HENDERSON, C.F., TILTON, E.W. **Tests with acaricides against the brown wheat mite**. *Journal of Economic Entomology*, Baltimore, v. 48, n. 2, p. 157-161, 1955.

IBÁ. INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. Relatório Estatístico de 2015 – Ano base 2014, IBÁ- 2015. Disponível em <http://www.iba.org/shared/iba_2015.pdf>. Acesso em: 09 dez. 2015

ISHII, H., Studies on fungicide resistance in phytopathogenic fungi,. **Journal of General PLant Pathology**, v. 70, p.379-381. 2004.

JUNGHANS, D. T. **Quantificação da severidade, herança da resistência e identificação de marcadores RAPD ligados à resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*) em *Eucalyptus grandis***.2000. 53 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

KATAN, T. Resistance to 3, 5-dichlorophenyl-N-cyclic imide (“dicarboximide”) fungicides in the grey mould pathogen *Botrytis cinerea* on protected crops. **Plant Pathology**. v. 31, p. 133-141. 1982.

KIMURA, M. K.; SOUZA, P. E.; CASTRO, H. A. Sensibilidade in vitro de *Botrytis cinerea* a fungicidas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v.25, n.5, p. 1150-1160, 2001.

KRUGNER T. L., AUER C. G. **Doenças do eucalipto**. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L. E. A. (Eds.) Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas. São Paulo SP. Ceres. p. 319-332. 2005.

LEROUX, P.; CHAPELAND, F.; DESBROSSES, D.; GREDET, M. **Patterns of crossresistance to fungicides in Botryotinia fuckeliana (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards**. Crop Protection v. 18, p. 687-697. 1999.

LIMA. C. S. **Doenças fúngicas em plantas medicinais em Lavras, Minas Gerais**. 2002. 66p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Programa de Pós-Graduação em fitopatologia. Universidade Federal de Lavras, Lavra, 2002.

MARTINEZ, F.; BLANCARD, D.; LECOMTE, P.; LEVIS, C.; DUBOS, B.; FERMAUD, M. Phenotypic differences between vacuma and transposa sub-populations of *Botrytis cinerea*. **European Journal of Plant Pathology** v. 109, p. 479-488. 2003.

MASSON, M.V.; MORAES, W.B.; MATOS, W.C.; ALVES, J.M.; FURTADO, E.L. Economic viability and efficiency in chemical control of *Eucalyptus* rust under field conditions. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.2, p.107-112, 2011.

MIRANDA, J. C.; MENDONÇA, J. M. A.; SOUZA, P. E.; POZZA, E. A.; LOZANO, F. Controle do mofo das flores (*Botrytis cinerea*) e Oídio (*Oidium leucoconium*) com fungicidas, em roseiras sob cobertura artificial. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 27, n. 1, p. 96. 2001 (resumo)

MYRESIOTIS, C.; BARDAS, G.; KARAOGLANIDIS, G. Baseline sensitivity of *Botrytis cinerea* to pyraclostrobin and boscalid and control of anilinopyrimidine- and benzimidazole-resistant strains by these fungicides. **Plant Disease**. v. 92, p. 1427-1431. 2008.

NOJOSA, G. B. de A. **Uso de silicatos e fosfitos na indução de resistência**. In: PASCHOLATI, S. F. (Cord.). 1ª Reunião Brasileira sobre indução de resistência em plantas contra fitopatógenos / Perspectivas para o século XXI. São Pedro, SP. p. 24-26. 2002.

RAPOSO, R.; DELCAN, J.; MELGAREJO, P. **Distribution and fitness of isolates of *Botrytis cinerea* with multiple fungicide resistance in Spanish greenhouses**. Plant Pathology 45: 497-505, 1996.

REYNA, R.; ROMERO, G. **Evaluación de métodos biológicos y químicos para el control de *Botrytis cinerea* em viveros de *Eucalyptus globulus***. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 34. Suplemento. Fitopatologia B brasileira, v. 26, 2001. p. 796, 2001

SALLA, T. D. **Produção de ácido 3-indolacético, potencial rizogênico e indução de respostas de defesa por *Streptomyces* sp. Em plantas de eucalipto para o controle de *Botrytis cinerea***. 2014. 89 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

SILVA, J. C. M. D.; COELHO, L. Resistência a fungicidas de *Botrytis cinerea* Persoon ex Fries, fungo causador de tombamento em mudas de *Eucalyptus* sp. em viveiros florestais. **Ciência Florestal**. v. 13, n. 2, p. 27-36. 2003.

SILVA, J. C., DUARTE, I. N., MOURA, E. A. C., COELHO, L. CRESCIMENTO DE *Cylindrocladium* sp. E *Botrytis cinerea* EM MEIO DE CULTIVO COM SILÍCIO. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.6, p. 1, N.11; 2010

SILVA, J. C.; KNYCHALA, I. B.; COELHO, L.; FERNANDES, J. J. Crescimento micelial e esporulação do fungo *Quambalaria eucalypti* em diferentes meios e doses de silício. In: VII CISAGRO - Ciclo de Seminários da Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia. p. 31.2010.

SILVA, D. E. M.; AZEVEDO, L. A.S.; POLTRONIERI, T.P.S. Avaliação da resistência de espécies de eucalipto à ferrugem (*Puccinia psidii* Winter). **Summa Phytopathologica**, v.40, n.1, p.54-62, 2014.

SILVERA-PEREZ, A. E. **Detección de mutação associada à resistência a tiofanato metílico, iprodiona e boscalida em isolados de *Botrytis cinerea* de rosa pela análise de dissociação de alta resolução**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, PhD Thesis. 2013

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; SÔNEGO, O. R.; MARCANTONI, G. E. S. ***Botrytis cinerea*, mofo cinzento da videira**. Bento Gonçalves, RS. Comunicado Técnico, nº 20: Embrapa-CNPUV, p.4. 1996.

WILLIAMSON, B.; TUDZYNSKI, B.; TUDZYNSKI, P., VAN KAN, J. A. L. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. **Molecular Plant Pathology** 8: 561-580. 2007.