



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA – FAV
CURSO DE AGRONOMIA**

**CONTROLE QUÍMICO DE *Colletotrichum truncatum* E
Colletotrichum cliviae, AGENTES CAUSAIS DA ANTRACNOSE DA
SOJA**

GABRIEL PANDOLFO DA MOTTA

**BRASÍLIA, DF
2018**

GABRIEL PANDOLFO DA MOTTA

**CONTROLE QUÍMICO DE *Colletotrichum truncatum* E
Colletotrichum cliviae, AGENTES CAUSAIS DA ANTRACNOSE DA
SOJA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Banca Examinadora da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária como exigência final para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo

Orientador: Dr. JUSTINO JOSÉ DIAS NETO

**BRASÍLIA, DF
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA

Pandolfo da Motta, Gabriel

Controle químico de *Colletotrichum truncatum* e *Colletotrichum cliviae*, agentes causais da antracnose da soja / Gabriel Pandolfo da Motta; orientador Justino José Dias Neto. -- Brasília, 2018. 34 p.

Monografia (Graduação - Agronomia) -- Universidade de Brasília, 2018.

1. Antracnose. 2. Fitopatologia. 3. Fungicidas. 4. Sanidade de sementes. 5. Soja.
I. Dias Neto, J. J. II. Dr.

Cessão de direitos

Nome do Autor: Gabriel Pandolfo da Motta

Título: Controle químico de *Colletotrichum truncatum* e *Colletotrichum cliviae*, agentes causais da antracnose da soja

Ano: 2018

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desse relatório e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva - se a outros direitos de publicação, e nenhuma parte desse relatório pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

CONTROLE QUÍMICO DE *Colletotrichum truncatum* E *Colletotrichum cliviae*, AGENTES CAUSAIS DA ANTRACNOSE DA SOJA

GABRIEL PANDOLFO DA MOTTA

Trabalho de conclusão de curso submetido à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária-FAV da Universidade de Brasília - UnB, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para a obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

APROVADO PELA BANCA EXAMINADORA EM: 16/11/2018

BANCA EXAMINADORA:

JUSTINO JOSÉ DIAS NETO, Dr. Universidade de Brasília.
Professor do Departamento de Fitopatologia – UnB.
(ORIENTADOR)

ADALBERTO CORRÊA CAFÉ FILHO, Ph.D. Universidade de Brasília.
Professor do Departamento de Fitopatologia – UnB.
(EXAMINADOR)

LINCOLN V. A. DOS SANTOS BIZERRA, M.Sc. Universidade de Brasília.
Doutorando Departamento de Fitopatologia – UnB.
(EXAMINADOR)

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais e a minha irmã que nunca mediram esforços para que eu conseguisse estudar, obrigado por todo apoio prestado durante a minha vida, por todos os ensinamentos, princípios e valores.

À toda minha família que sempre torceu por mim e me apresentaram o caminho da honestidade e persistência.

Ao meu orientador, Justino, e ao Prof. Café, aos quais tenho imensa admiração. Agradeço pela oportunidade, por todo o conhecimento transmitido e por serem exemplos de grandes profissionais para mim.

A todos os professores que tive, que de alguma maneira puderam compartilhar conhecimento e contribuir com o meu aprendizado durante esses anos de graduação.

À minha namorada, Daniela, obrigado por dividir comigo os momentos difíceis, me apoiar sempre e ser minha melhor amiga.

Aos amigos e futuros colegas de profissão que a UnB me deu: Ana, Dudu, Emiliano, Isac, Natalia e Wanessa.

Aos meus amigos do grupo artístico “Os Querencianos”. Obrigado por todo apoio, conselhos e descontração nos finais de semana, esses cinco anos com certeza foram mais leves com a amizade de vocês.

Ao Departamento de Fitopatologia, todos seus funcionários e professores, que me deram o suporte que permitiu a realização desse trabalho. Aos amigos e colegas que esse departamento me deu, em especial, Marcelo, Éder, Willian, Camila, Débora e Lincoln.

RESUMO

A cultura da soja é de alta relevância para a agricultura nacional. Dentre os diversos fatores adversos a produção, as doenças são um dos principais componentes da perda de produtividade. A antracnose da soja é uma doença causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*, e recentemente também, por *Colletotrichum cliviae*. Nos últimos anos a doença tem sido de difícil controle, o que pode ser atribuído a redução da sensibilidade dos agentes causais aos fungicidas. Os objetivos do presente trabalho foram: (i) determinar *in vitro* a sensibilidade de isolados de *C. cliviae* e *C. truncatum* a fungicidas comerciais, com ingredientes ativos puros ou em misturas duplas e tripla e (ii) avaliar em campo o controle químico da antracnose em soja, inoculada com isolados de *C. cliviae* e *C. truncatum*. No teste *in vitro* foram usados 10 fungicidas em cinco concentrações de ingredientes ativos: 0,01; 0,1; 1; 10 e 50 ppm, incorporados ao meio BDA e o crescimento micelial de dois isolados de *C. cliviae* e dois de *C. truncatum* foi avaliado a cada dois dias, por um período de dez dias. Em campo, a cultivar de soja M9144 RR foi inoculada com *C. cliviae* e *C. truncatum* no estágio fenológico V2, e foram realizadas duas pulverizações com fungicidas no estágio R2 e R2 + 20 dias. Foram testados cinco fungicidas comerciais. Foi avaliada a incidência de antracnose em vagens no estágio R5, produtividade e a sanidade de sementes. Os isolados se mostraram pouco sensíveis aos fungicidas *in vitro*, a maioria dos fungicidas não inibiu completamente o crescimento micelial dos isolados na concentração mais alta testada, 50 ppm. Em campo a incidência da antracnose não foi controlada eficientemente, porém nas parcelas tratadas com fungicidas foram observados acréscimos na produtividade e redução na transmissão de *Colletotrichum* por sementes.

Palavras chave: Antracnose; Fitopatologia; Fungicidas; Sanidade de sementes; Soja.

ABSTRACT

Soybean cultivation is very relevant to national agriculture. Among the several adverse production factors, diseases are one of the main components of yield losses. Soybean anthracnose is a disease caused by the fungus *Colletotrichum truncatum*, and recently also by *Colletotrichum cliviae*. In recent years the disease has been difficult to control, which can be attributed to the reduction of sensitivity of the disease causal agents to fungicides. The objectives of the present work were to determine the *in vitro* susceptibility of *C. cliviae* and *C. truncatum* isolates to commercial fungicides with pure active ingredients or in double and triple mixtures and to evaluate in the field the control of soybean anthracnose, inoculated with isolates of *C. cliviae* and *C. truncatum*. In the *in vitro* test, 10 fungicides were used at five concentrations of active ingredients: 0.01; 0.1; 1; 10 and 50 ppm, incorporated into the BDA medium and the mycelial growth was evaluated every two days for a period of ten days. In the field, the soybean cultivar M9144 RR was inoculated with *C. cliviae* and *C. truncatum* at V2 stage, and two fungicide applications were performed on plants at R2 stage and R2 + 20 days. Five commercial fungicides were tested. The soybean anthracnose incidence on pods at the R5 stage, grain yield and soybean seed health were evaluated. All isolates showed low sensitivity to fungicides *in vitro*, and most fungicides did not completely inhibit the mycelial growth of the isolates at the highest concentration tested, 50 ppm. In the field the soybean anthracnose incidence on pods was not efficiently controlled, but in the plots treated with fungicides grain yield was increased and a reduction in the transmission of *Colletotrichum* by seeds was observed.

Key words: Anthracnose; Phytopathology; Fungicides; Seed health; Soybean;

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações de fungicidas utilizados no ensaio de fungitoxicidade “in vitro” e doses dos tratamentos para antracnose da soja causada por <i>Colletotrichum cliviae</i> e <i>Colletotrichum truncatum</i> em campo.	18
Tabela 2. Descrição dos tratamentos em campo experimental.	21
Tabela 3. Concentração mínima inibitória (CMI) do crescimento micelial e isolados de <i>Colletotrichum truncatum</i> e <i>C. cliviae</i>	23
Tabela 4. Incidência média de antracnose em soja em parcelas não inoculadas e inoculadas com <i>C. truncatum</i> e <i>C. cliviae</i> sob tratamento de fungicidas.	25
Tabela 5. Produtividade média de soja em parcelas não inoculadas e inoculadas com <i>C. truncatum</i> e <i>C. cliviae</i> sob tratamento de fungicidas.	27
Tabela 6. Incidência de fungos associados a sementes de soja.	28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo Geral	10
2.2 Objetivos Específicos	10
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1 A cultura da soja.....	11
3.2 Antracnose da soja – importância, etiologia e sintomatologia	12
3.3 Controle da antracnose	13
3.4 Resistência de fungos a fungicidas	16
4 MATERIAL E MÉTODOS	18
Controle químico de <i>C. cliviae</i> e <i>C. truncatum</i> in vitro	18
Controle químico de <i>C. cliviae</i> e <i>C. truncatum</i> em campo.....	20
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
6 CONCLUSÕES	29
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
APÊNDICES.....	33

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) destaca-se como uma das mais importantes culturas na economia mundial. O Brasil ocupa atualmente o segundo lugar entre os maiores produtores mundiais na safra 2017/2018, com produção de 118 milhões de toneladas (CONAB, 2018).

Destacam-se como fatores limitantes de produtividade da soja as doenças que vêm crescendo com a expansão das fronteiras agrícolas e também em consequência da monocultura. Dentre essas doenças vem se destacando a antracnose, que têm aumentado em prevalência e intensidade e causado perdas significativas quando as condições climáticas são favoráveis (DIAS et al., 2016).

Até muito recentemente a antracnose da soja no Brasil era descrita como uma doença causada por *Colletotrichum truncatum*. No entanto, a partir de 2014 *C. cliviae* também foi relatado como causador da antracnose em soja (DIAS, 2014; BARBIERI et al., 2017). Nesses trabalhos, *C. cliviae* foi isolado de plantas de soja e a patogenicidade foi confirmada, sugerindo que a antracnose da soja possui mais de um agente causal. Entretanto, o conjunto de informações disponíveis indica que a etiologia da antracnose da soja não está plenamente esclarecida e a carência de informação sobre o patossistema soja-*Colletotrichum* dificulta o desenvolvimento de ações de controle.

A doença é considerada fator limitante na produção da soja. DIAS et al. (2016) sugerem significativas relações negativas entre a incidência da doença e a produtividade ($R^2 = 0,85$), onde para cada 1% de incremento de incidência de antracnose em vagens, entre 9 e 17% de incidência em vagens, são perdidos 90 kg.ha⁻¹ de grãos de soja. O tratamento químico com fungicidas é utilizado como principal método de controle da antracnose pelos produtores, porém são frequentes os relatos de dificuldade no controle. A adaptação rápida de populações de fungos pode ocorrer com redução da sensibilidade ao fungicida, o que demanda a utilização de fungicidas com diferentes mecanismos de ação (CASSETARI NETO et al., 2001; ADAMI et al., 2006). Não se sabe até o momento o comportamento principalmente de *C. cliviae* com os tratamentos químicos utilizados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o controle químico de *Colletotrichum truncatum* e *Colletotrichum cliviae* de soja.

2.2 Objetivos Específicos

- Estudar a fungitoxicidade “in vitro” de dez fungicidas comerciais sobre dois isolados de *C. truncatum* e dois de *C. cliviae* de soja;
- Avaliar o controle da antracnose com o uso de fungicidas em soja inoculada com *C. truncatum* e *C. cliviae* em campo experimental.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A cultura da soja

A soja, é uma planta herbácea, da classe Rosidaeae, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, tribo Phaseoleae, gênero *Glycine* L., espécie (*Glycine max* (L.) Merrill) (EMBRAPA, 2018).

O mercado internacional de soja é composto por quatro principais *players* Produtores e Exportadores: Brasil, Estados Unidos e Argentina, e um comprador (importador) a China. A cultura destaca-se como uma das mais importantes culturas na economia mundial e segundo estimativa do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), foi estimado para a safra mundial de soja em grãos 2018/19 que Brasil (33,52%), EUA (32,63%) e Argentina (15,86%), são responsáveis por 82,01% de toda a produção mundial de soja em grão, enquanto a China responderá por 61,54% de todas as importações mundiais (CONAB, 2018).

O Brasil ocupa atualmente o segundo lugar entre os maiores produtores mundiais na safra 2017/2018, com produção de 118 milhões de toneladas e produtividade média de 3.333 kg/ha (CONAB, 2018).

A estimativa é de que a produção do Brasil ultrapasse a dos EUA, e passe a ser o maior produtor de soja do mundo em curto prazo. É estimado que as áreas plantadas no país deverão ter uma expansão de quase 7%, passando de 35,10 milhões de hectares na safra 2017/2018 para 37,50 milhões de toneladas na safra 2018/19. Já a produtividade, calculada pela média dos 5 anos, será de 3.210 kg/ha para safra 2018/2019, com produção de 120,50 milhões de toneladas.

O complexo soja, composto pela soja em grãos e seus derivados como óleo e farelo de soja foi o principal produto exportado em 2017, representando 14,10% de toda a exportação brasileira, ficando à frente de produtos importantes como minérios, petróleo e combustíveis (CONAB, 2018).

Existem inúmeros fatores limitantes da produtividade para a cultura da soja, como plantas daninhas, clima, solo, pragas, doenças, entre outros. As doenças são um dos principais fatores que limitam a obtenção de altos rendimentos e aproximadamente quarenta doenças causadas por fungos, bactérias, nematóides e vírus já foram identificadas no Brasil. A importância econômica de cada doença varia a cada ano e entre as diferentes regiões produtoras, dependendo das condições climáticas de cada safra, manejo e época de cultivo (DIAS et al., 2016).

Dentre as doenças, tem se destacado antracnose, uma das doenças mais comuns nas lavouras de soja do Brasil, disseminada por todas as regiões produtoras (DIAS et al., 2016).

3.2 Antracnose da soja – importância, etiologia e sintomatologia

No Brasil a antracnose da soja foi relatada pela primeira vez em 1961 no estado do Rio Grande do Sul, porém desde os anos 80 a doença tem sido prevalente na região do Cerrado (ARAÚJO et al., 1988).

Na região dos Cerrados sua alta incidência e intensidade tem causado perdas significativas, que podem ser atribuídas as condições climáticas favoráveis ao patógeno (DIAS et al., 2016).

No Brasil, a antracnose era descrita como uma doença causada por *Colletotrichum truncatum* (= *C. dematium* var. *truncata*). Em levantamento nacional, Rogerio et al. (2016) descreveram *C. truncatum* como sendo o único agente causal da antracnose da soja no Brasil até o ano de 2007. No entanto, nos últimos anos, uma nova espécie de *Colletotrichum*, *Colletotrichum cliviae*, também foi relatada como causador da antracnose em soja nos estados do Tocantins e Mato Grosso sugerindo que esse novo agente causal pode estar associado a antracnose da soja em regiões mais quentes do país (DIAS, 2014; BARBIERI et al., 2017; DIAS et al., 2018).

Os fungos do gênero *Colletotrichum* (Teleomorfo: *Glomerella*) são amplamente disseminados e conhecidos por causar doenças economicamente importantes, conhecidas como antracnoses, principalmente em regiões tropicais. É um grupo diverso de fitopatógenos, onde uma única espécie é capaz de causar doença em vários hospedeiros, bem como um único hospedeiro pode ser colonizado por várias espécies de *Colletotrichum* (MENEZES, 2013).

Se conhece a capacidade de fungos desse gênero causarem infecção latente, onde as plantas passam longos períodos sem exibirem sintomas, mas onde o patógeno pode ser reisolado dos tecidos do hospedeiro. Ou seja, o patógeno pode infectar a planta, mas os sintomas da doença, só serão observados em estádios mais avançados do seu desenvolvimento. KLINGELFUSS & YORINORI (2001) e COSTA et al. (2009), estudando a infecção latente, observaram a presença *C. truncatum* nas

folhas e hastes de plantas de soja, mesmo com a ausência de sintomas de antracnose até o final do ciclo da cultura.

Na soja, as fontes de inóculo inicial da doença são sementes infectadas ou restos culturais da safra anterior e a planta pode ser infectada em todos os estágios de desenvolvimento. A antracnose pode causar perda total da produção em anos chuvosos, porém o mais comum é causar uma redução no número de vagens, e consequentemente redução da produtividade. Em plântulas, o sintoma pode ser necrose nos cotilédones, ou no hipocótilo, causando “damping off”, além de muitas sementes apodrecerem antes mesmo da emergência. Em estágios de desenvolvimento mais avançados pode causar necrose nos pecíolos, folhas, hastes, e nas vagens, incluindo também a abertura imatura de vagens e induzindo a retenção foliar e haste verde. Campos que sofrem atraso na colheita, em razão de chuvas podem apresentar elevados índices de infecção por *Colletotrichum* nas sementes (ALMEIDA et al., 1997, p. 603; GALLI et al., 2005; HENNING et al., 2014).

As vagens infectadas nos estádios R3-R4 adquirem coloração castanho-escura a negra e ficam retorcidas (ALMEIDA et al., 1997, p. 603), sintoma também observado por DIAS et al. (2018) em vagens de soja inoculadas com *C. cliviae*.

3.3 Controle da antracnose

Dentre as estratégias de manejo de doenças, destaca-se o controle integrado, que consiste na utilização de todas as técnicas disponíveis para manter o nível do patógeno abaixo do nível de dano econômico (FAO, 1968).

As técnicas de controle para a antracnose da soja consistem em: uso de sementes sadias, tratamento de sementes, rotação de culturas, espaçamento entre linhas e estande adequado que permitam bom arejamento da lavoura, uso de cultivares geneticamente resistentes, adubação potássica equilibrada e controle químico (ALMEIDA et al., 1997, p. 604; SILVA, 2018).

O controle genético da antracnose da soja ainda não é muito eficiente devido a falta de opções de cultivares resistentes. Entretanto alguns trabalhos têm encontrado certas fontes de resistência e mostrado uma variação no grau de tolerância entre cultivares. Quando a infecção ocorre em estádios iniciais na planta V1-V2, a suscetibilidade da planta ao patógeno é maior. Já quando a infecção ocorre em estádios mais avançados (V5-V6), em geral, as cultivares mostram-se menos

suscetíveis. Além disso, o controle genético tem como vantagens o reduzido impacto ambiental, baixo custo e redução da necessidade de insumos (COSTA et al., 2006; COSTA et al., 2009).

Atualmente a maior parte das áreas de cultivo de soja é cultivada em sistemas de plantio direto em monocultura ou apenas sucessão de culturas, onde se alterna entre soja na primavera/verão e milho (*Zea mays*) no outono/inverno. Essas práticas geram boas condições para fungos necrotróficos de órgãos aéreos sobreviverem saprofiticamente em restos culturais. Um trabalho feito por Reis et al. (2011), mostra que restos culturais da soja demoram até 35 meses para serem totalmente decompostos e sugere que esse seja o tempo necessário para a rotação de culturas visando a redução do inóculo na área. Nesse trabalho *Colletotrichum* foi identificado como uma das espécies saprófitas dos restos de cultura da soja. Além disso, a rotação de culturas é dificultada pela ampla gama de hospedeiros de *C. truncatum*.

A opção de tratamento de sementes com fungicidas pode ser uma ferramenta importante para o controle de *Colletotrichum*. Sementes contaminadas podem ter a germinação reduzida (GALLI et al., 2005; DIAS et al., 2018) e dessas sementes, as que germinam estão sujeitas a podridão nos cotilédones e hipocótilos, e tombamento em pós emergência. Mais importante ainda, do ponto de vista epidemiológico, o fungo tem o potencial de dispersão a longas distâncias por meio de lotes de sementes contaminadas. Trabalhos apontam que o tratamento de sementes de soja com Fludioxonil+Mefenoxan, Cabendazin+Thiram e Thiabendazole+Thiram podem ter eficiência sobre o controle de *C. truncatum*. Além disso, houve um incremento no potencial fisiológico e aumento da germinação das sementes (PEREIRA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2013).

Na prática, a rotação de culturas não é realizada corretamente, tão pouco há grande disponibilidade de cultivares resistentes. Tais fatores, juntamente com a alta incidência de *Colletotrichum* em lotes de sementes, culminam na adoção de aplicações de fungicidas na parte aérea como a principal técnica de manejo da doença. A facilidade de aplicação e os resultados imediatos tornaram os fungicidas produtos amplamente difundidos pelos produtores (SILVA, 2018).

Com a introdução nos anos 1990 da ferrugem asiática da soja no Brasil, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, as lavouras de soja passaram ser pulverizadas com fungicidas periodicamente. A pulverização de fungicidas é feita para prevenir a entrada do patógeno da ferrugem no hospedeiro ou paralisar o

desenvolvimento de uma infecção já estabelecida. O fungicida não precisa necessariamente matar o fungo. Alguns inibem o crescimento micelial e/ou a esporulação. Os fungicidas são constituídos por ingrediente ativo e ingrediente inerte. O ingrediente ativo é a parte do produto responsável pela ação sobre o alvo biológico, já o ingrediente inerte serve como diluente e veículo do ingrediente ativo.

Os ingredientes ativos podem ser classificados de acordo com o mecanismo de ação e grupo químico. O mecanismo de ação é a primeira lesão que o fungicida causa na função metabólica normal dos fungos, resultando em sua morte ou ação final do produto. O mecanismo de ação de um grupo químico não é alterado com o passar do tempo. (BESTOR et al., 2011; FRAC, 2018; SILVA, 2018).

Três grupos químicos sítio-específicos têm sido amplamente utilizados em pulverizações nas lavouras de soja, principalmente em misturas comerciais registradas para o controle da ferrugem asiática: triazol (DMI), estrobilurina (QoI) e carboxamida (SDHI). Grupos químicos com ação multissítios também vêm sendo utilizados como ferramentas para o manejo da resistência de fungos a fungicidas, são eles: ditiocarbamatos e cloronitrilas, além dos inorgânicos cúpricos e sulfurados (FRAC, 2018).

Os fungicidas do grupo químico triazol têm como mecanismos de ação a inibição da formação da membrana celular. Esses mecanismos de ação atuam como inibidores da biossíntese de ergosterol, e fazem parte de um subconjunto, os inibidores da desmetilação do C14, (DeMethylation Inhibitors - DMI). São classificados como médio risco para desenvolvimento de resistência, porém já é conhecida a resistência em várias espécies de fungos (FRAC, 2018).

O mecanismo de ação dos fungicidas do grupo químico estrobilurina, age como inibidor da cadeia respiratória no complexo III. Esse mecanismo de ação atua impedindo na cadeia bioquímica a transferência de elétrons, bloqueando a respiração do patógeno. Esses produtos pertencem ao grupo dos inibidores de quinona externa (Quinone outside Inhibitors - QoI). São conhecidos vários casos de resistência de fungos a esse grupo químico, classificados como alto risco para desenvolvimento de resistência (FRAC, 2018).

As carboxamidas têm como mecanismo de ação a inibição da cadeia respiratória no complexo II. Esse mecanismo age como inibidor da oxidação da enzima succinato deshidrogenase (Succinate- dehydrogenase Inhibitors - SDHI). As carboxamidas registradas no Brasil para a cultura da soja são: Benzovindiflupyr,

Bixafem e Fluxapiraxade. O risco de desenvolvimento de resistência a esse grupo químico é classificado de médio a alto (FRAC, 2018; BRASIL, 2018)

Os fungicidas multissítio apresentam vários sítios de ação celular e metabólica. Atuam em mais de um processo bioquímico simultaneamente. Estes são considerados como de baixo risco de desenvolvimento de resistência, não são conhecidos sinais de resistência de fungos a esses fungicidas. (FRAC, 2018).

Os impactos ambientais e os problemas de patógenos resistentes a produtos químicos tem levado a busca de novas ferramentas para o controle de doenças de plantas. Um trabalho recente feito por Zanatto et al. (2018) testou o uso de extrato etanólico de própolis (EEP), como produto alternativo no controle de doenças na cultura da soja. Apesar do EPP se mostrar eficiente como controle de algumas doenças, nas condições testadas não foi eficiente em controlar a antracnose.

3.4 Resistência de fungos a fungicidas

O desenvolvimento de fungos resistentes a fungicidas é um dos mais importantes problemas do controle químico de doenças de plantas. A resistência de fungos a fungicidas pode ter graves consequências em toda a cadeia produtiva, por exemplo: a empresa que desenvolveu o produto perde a credibilidade dos clientes, podendo perder valor de mercado pela redução nas vendas; os produtores passam a ter maiores perdas na produção e tendem a aplicar os produtos mais intensamente, o que acarreta em maiores custos de produção e contaminação ambiental; os consumidores podem passar a receber alimentos com mais resíduos de agrotóxicos. Devido a essas consequências o monitoramento e a avaliação da resistência de fungos a fungicidas é de grande importância para a sociedade em geral (GHINI & KIMATI, 2000; AVOZANI, 2011)

A falta do manejo integrado no controle da antracnose e a pulverização contínua de fungicidas, principalmente de sítio específico, podem promover o desenvolvimento de resistência, onde fungos passam a não controlados por um fungicida anteriormente eficaz. A grande diversidade das populações de fungos aliada à elevada capacidade de reprodução geram uma situação favorável para a seleção de linhagens resistentes na população de uma espécie de fungo. O fungicida passa então a favorecer a linhagem resistente na competição com as linhagens sensíveis. A resistência de fungos a fungicidas é uma alteração herdável e estável (GHINI & KIMATI, 2000).

Os mecanismos de resistência no fungo estão relacionados com os mecanismos de ação dos fungicidas. Por isso o risco do desenvolvimento de resistência é maior com o uso de fungicidas sítio específicos, pois são necessárias alterações em poucos genes para que uma linhagem possa sobreviver mesmo com a aplicação de um determinado produto. Já os fungicidas multissítio, o número de alterações que o fungo tem que fazer é muito maior, por isso o baixo risco de resistência a esse grupo (GHINI & KIMATI, 2000).

A resistência pode ser uma característica qualitativa quando é controlada por poucos ou um único gene de efeito acentuado. Resulta em ineficácia da molécula química mesmo em concentrações mais elevadas. A resistência quantitativa decorre da interação de muitos genes, sendo cada um responsável por um efeito pequeno, podendo ser superada pelo uso de doses mais altas do princípio ativo (GHINI & KIMATI, 2000).

É classificada como resistência cruzada, quando à resistência a dois ou mais fungicidas com o mesmo mecanismo de ação, é conferida pelo mesmo fator genético. Já a resistência cruzada negativamente correlacionada, um fator genético estabelece resistência a um determinado fungicida, e ao mesmo tempo, aumenta a sensibilidade a um outro fungicida. Também existe a resistência múltipla, na qual a resistência a dois ou mais fungicidas, de diferentes mecanismos de ação, é conferida por diferentes fatores genéticos (GHINI & KIMATI, 2000).

O conceito fungitoxicidade é relacionado a uma molécula química e a propriedade que apresenta em relação à toxicidade a fungos. Diferentemente de sensibilidade que, em função das características genéticas, demonstra a reação do fungo ao fungicida. Fungitoxicidade é um conceito ligado à molécula química e a sensibilidade, ao fungo. (GHINI & KIMATI, 2000; AVOZANI, 2011).

Estudos devem ser feitos *in vitro* e *in vivo* para a determinação da eficiência de fungicidas. A comparação da potência de fungicidas e a mensuração da sensibilidade de fungos a fungicidas podem ser determinados através da (concentração inibitória) CI50. Esta se refere à concentração de uma substância que inibe 50% do crescimento micelial ou capacidade para inibição de 50% da população patogênica. Se a CI50 de um fungicida, apresentar alteração para valores maiores com o decorrer do tempo, pode ser um indicativo de desenvolvimento de resistência. (GHINI & KIMATI, 2000; REIS et al., 2015).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Controle químico de *C. cliviae* e *C. truncatum* in vitro

A primeira etapa do ensaio de fungicidas *in vitro* foi realizada no laboratório de Micologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília (UnB). O experimento foi instalado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com um total de 204 tratamentos com 4 repetições.

Foram utilizados quatro isolados de *Colletotrichum*, 2 isolados de *C. cliviae* (CC2 e I5H) originários do Tocantins e 2 de *C. truncatum* (8.2MM e 12.3AR) originários do Maranhão e Argentina respectivamente. Para cada um dos isolados foram utilizados dez fungicidas em cinco concentrações diferentes (0.01; 0.1; 1; 10; e 50 ppm) e uma testemunha sem fungicida. Os fungicidas utilizados e as concentrações de ingrediente ativo podem ser encontradas na Tabela 1.

Tabela 1. Concentrações de fungicidas utilizados no ensaio de fungitoxicidade “in vitro” e doses dos tratamentos para antracnose da soja causada por *Colletotrichum cliviae* e *Colletotrichum truncatum* em campo.

Nome comercial	Ingrediente ativo ³	Concentração- i.a ¹	Dose - p.c ²
Score Flexi®	Propiconazol + difenoconazol	250 + 250	0,1
Sphere Max®	Trifloxistrobina + ciproconazol	375 + 160	0,3
Orkestra SC®	Fluxapiroxade + piraclostrobina	167 + 333	0,3
Elatus®	Azoxistrobina + benzovindiflupir	300 + 150	0,2
Ativum®	Epoxiconazol + fluxapiroxade + piraclostrobina	50 + 50 + 81	0,8
Glider 720 SC®	Clorotalonil	720	-
Opera Ultra®	Piraclostrobina + metconazol	130 + 80	-
Score®	Difenoconazol	250	-
Unizeb Gold® Aproach	Mancozeb	750	-
Prima®	Picoxistrobina + ciproconazol	200 + 80	-

¹i.a= ingrediente ativo (g.L⁻¹ ou g.kg⁻¹), ²p.c= produto comercial (L.ha⁻¹ ou kg.ha⁻¹), ³grupo químico: propiconazol, difenoconazol, ciproconazol, metconazol, e epoxiconazol = triazol; trifloxistrobina, piraclostrobina, picoxistrobina e azoxistrobina = estrobilurina; fluxapiroxade e benzovindiflupir = carboxamida; mancozeb = ditiocarbamato; clorotalonil = Isoftalonitrilas.

Para produção dos meios de cultivo com fungicida, foi utilizado BDA (39g de BDA comercial – KASVI, por litro de água). Após autoclavagem o meio de cultura foi colocado em banho-maria com temperatura ajustada para 45 °C por 3 h com a finalidade de estabilizar a temperatura e não degradar o princípio ativo do fungicida acrescido ao meio líquido. Durante o período de resfriamento e estabilização da temperatura do meio de cultivo foram preparadas as soluções estoques e as diluições para as concentrações finais de 50, 10, 1, 0.1 e 0.01 ppm em meio de cultivo seguindo as técnicas utilizadas por TAVARES & SOUSA (2005) e KOSOSKI et al (2001) modificado.

A técnica utilizada consistiu-se em diluir 1g dos fungicidas em diferentes volumes de água para cada fungicida, de acordo com a concentração de ingrediente ativo (i.a) de cada fungicida, até obter-se uma solução estoque na concentração 1000 ppm de i.a. A partir dessa solução foram feitas diluições em série, sendo que retirando 1 ml de cada solução e completando com água até o volume de 10ml, até se obter as concentrações desejadas. A água utilizada nas diluições foi previamente destilada e autoclavada. As soluções diluídas foram adicionadas em meio BDA e 25 ml do meio de cultura foi vertido em placas de Petri de 90 mm de plástico com auxílio de uma pipeta dosadora Kliper (Bico de papagaio) e 24 horas após a gelatinização foi transferido 01 disco de micélio de 6mm para as placas e estas foram dispostas nas BODs com temperatura ajustada para 25±2 °C e fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada a cada dois dias com uso de um paquímetro digital até que cada testemunha de cada isolado tomasse completamente a placa. Foram realizadas em cada avaliação duas medições do diâmetro da colônia em formato de cruz (+) em cada placa. Através dessa avaliação verificou-se a inibição do fungo para os tratamentos utilizados. Foram feitas 3 avaliações para o isolado 1 de *C. cliviae* e 5 avaliações para o isolado 2 de *C. cliviae* e isolados 1 e 2 de *C. truncatum*.

Foi então determinada a concentração mínima inibitória (CMI), que corresponde ao intervalo entre concentrações dos fungicidas capaz de inibir completamente o crescimento micelial do isolado.

$$\%CMI = \frac{\text{crescimento da testemunha} - \text{crescimento do tratamento}}{\text{crescimento da testemunha}} \times 100$$

Controle químico de *C. cliviae* e *C. truncatum* em campo

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Biologia (EEB) da UnB, na safra 2017/2018. O clima da região segundo a classificação de Koppen é Aw com temperatura média de 21.1 °C e média anual de pluviosidade de 1.668 mm. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com quatro repetições e 18 tratamentos, detalhados na Tabela 2.

O solo é do tipo Latossolo Vermelho e textura argilosa. Foi realizada uma análise química desse solo e a correção foi feita aplicando-se 1 ton.ha⁻¹ de calcário dolomítico (PRNT 85%). A adubação foi realizada aplicando-se NPK em linha (550 kg.ha⁻¹) da fórmula 5-25-15 seguindo as recomendações de Sousa & Lobato (2004) para a cultura da soja.

O manejo inicial para descompactação do solo e eliminação de plantas daninhas foi de aração e gradagem. Em pós-emergência da cultura ainda foi realizada uma aplicação de Roundup® e Verdict® para manejo de plantas daninhas. Após a aplicação de Roundup® foi realizada uma adubação foliar com Manganês 10% na dose de 2 L.ha⁻¹.

Foi utilizada a cultivar M9144 RR, com hábito de crescimento determinado, semeada com espaçamento de 0,5 m entre linhas e 15 plantas por metro linear, em 22/11/2017. A cultivar utilizada foi suscetível a *C. truncatum* e *C. cliviae* em trabalhos anteriores. As sementes foram tratadas com Piraclostrobina +Tiofanato metílico + Fipronil, nas respectivas doses de 5g + 45g +50g para 100kg de sementes, produto comercial Standak Top®. Posteriormente inoculação foi feita com cepa *Bradyrhizobium japonicum* – SEMIA 5079/5080 (Starfix®).

Foram utilizados os fungicidas Sphere Max®, Score Flexi®, Orkestra®, Ativum® e Elatus® (Tabela 1), todos registrados para a cultura da soja, sendo Sphere Max®, Orkestra® e Ativum®, registrados para o controle de antracnose nessa cultura. As doses aplicadas seguiram a recomendação de bula de cada fungicida. Todos os tratamentos, exceto Score Flexi®, foram aplicados com o adjuvante natural óleo® na dose de 0,5 L.ha⁻¹. A aplicação dos fungicidas foi feita com o auxílio de um pulverizador costal jacto, com barra de pulverização de 4 bicos tipo cone e volume de aplicação de 200 L.ha⁻¹, de acordo com PESQUEIRA et al. (2016).

Tabela 2. Descrição dos tratamentos em campo experimental.

Tratamento	Inoculação	Fungicida
1	Não inoculada	Sem fungicida
2	Não inoculada	Score Flexi
3	Não inoculada	Sphere Max
4	Não inoculada	Orkestra
5	Não inoculada	Elatus
6	Não inoculada	Ativum
7	<i>C. trunactum</i>	Sem fungicida
8	<i>C. trunactum</i>	Score Flexi
9	<i>C. trunactum</i>	Sphere Max
10	<i>C. trunactum</i>	Orkestra
11	<i>C. trunactum</i>	Elatus
12	<i>C. trunactum</i>	Ativum
13	<i>C. cliviae</i>	Sem fungicida
14	<i>C. cliviae</i>	Score Flexi
15	<i>C. cliviae</i>	Sphere Max
16	<i>C. cliviae</i>	Orkestra
17	<i>C. cliviae</i>	Elatus
18	<i>C. cliviae</i>	Ativum

Os blocos foram formados pelas inoculações, com *C. truncatum*, *C. cliviae* e sem inoculação. Dentro de cada bloco foram distribuídas as aplicações dos cinco fungicidas e a testemunha sem fungicida. As parcelas foram constituídas de 3,5 metros de comprimento com sete linhas por 3,2 metros de largura, perfazendo uma área total de 11,2 m². Como área útil foram consideradas a três linhas centrais, descartando 0,5 m de bordadura de cada lado no sentido do comprimento das linhas, totalizando uma área útil de 3,3 m².

A inoculação dos isolados de *C. truncatum* (8.2MM + 12.3AR) e *C. cliviae* (CC2 + I5H) ocorreu aos 20 DAP (dias após o plantio). Foi pulverizada uma suspensão de conídios na concentração de 10⁵ conídios/ml com o auxílio de um pulverizador costal no volume de 200 litros/hectare.

Durante a condução dos experimentos ainda foram realizadas outras aplicações de defensivos agrícolas para o controle de formigas, lagartas, percevejos e vaquinhas, sendo todos os produtos recomendados pelo MAPA (BRASIL, 2017). A primeira aplicação dos tratamentos de fungicidas foi realizada no estágio de desenvolvimento R2 (floração plena) (FEHR & CAVINESS, 1977), e 20 dias após a primeira, foi realizada a segunda aplicação no estágio R5.

A avaliação de incidência de antracnose em vagens ocorreu no estágio R5 antes da segunda aplicação de fungicida. A incidência foi estimada baseada na porcentagem de vagens com antracnose sobre o número total de vagens por planta. Dez plantas foram selecionadas aleatoriamente em cada parcela. Em laboratório foram separadas vagens com sintomas e vagens sadias e estas foram contadas separadamente. Vagens amareladas foram separadas e contadas separadamente e uma amostra com 15 vagens de cada tratamento foi tratado com hipoclorito de sódio 1% colocado em câmara úmida para verificar se desenvolviam sintomas característicos da antracnose.

A colheita foi realizada manualmente no dia 23 de abril de 2018 e a debulha realizada com o auxílio de uma trilhadeira, utilizando apenas a área útil das parcelas (3 linhas centrais descartadas 0,5m em cada extremidade). A produtividade foi obtida pela massa dos grãos de cada parcela convertida em $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$.

Após a colheita, foi realizado em laboratório o teste de sanidade das sementes. Foi utilizado o método do papel-de-filtro (“blotter test”) para quantificação da porcentagem de sementes infectadas por patógenos de sementes. As sementes utilizadas passaram por assepsia superficial com hipoclorito de sódio 1% por um minuto e foram dispostas em caixas gerbox com uma folha de papel filtro esterilizada, embebida em solução de 2,4-D a 0,02% do produto comercial e em ágar diluído em água a 1%. Em cada gerbox foram colocadas 25 sementes, com 4 repetições, totalizando 100 sementes por parcela segundo metodologia proposta pela regra de análise de sementes (BRASIL, 1992).

As caixas gerbox contendo as sementes foram mantidas em incubadoras biológicas por um período de sete dias, com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h. Após esse período todas as sementes foram avaliadas, uma a uma, sob lupa e os fungos detectados foram quantificados e identificados através da observação de lâminas sob estereomicroscópio.

Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o programa SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2011). As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sensibilidade *in vitro* de isolados de *Colletotrichum cliviae* e *Colletotrichum truncatum* de soja a fungicidas.

Os dados referentes a sensibilidade de *C. cliviae* e *C. truncatum* aos fungicidas se encontram na Tabela 3 e Apêndices (A, B, C e D). O isolado 8.2 MM de modo geral foi o que apresentou a maior sensibilidade aos fungicidas. O fungicida Score Flexi® (propiconazol + difenoconazol) possui como ingrediente ativo a associação de dois triazóis (DMI). Tal associação foi eficiente para inibir o crescimento micelial de todos os isolados de *C. cliviae* e *C. truncatum*, em concentrações menores ou igual a 50 ppm.

A eficiência dessa associação é notada quando comparada com o fungicida Score, difenoconazol isoladamente, que inibiu o crescimento micelial de dois isolados (8.2 MM e CC2) nas concentrações testadas.

A concentração 0,01 ppm não foi eficiente para a inibição do crescimento micelial em nenhum caso. A baixa porcentagem de controle, inclusive na concentração 50 ppm sugere que outras concentrações acima desse valor precisam ser testadas.

Tabela 3. Concentração mínima inibitória (CMI) do crescimento micelial e isolados de *Colletotrichum truncatum* e *C. cliviae*.

Fungicidas	Isolado			
	8.2 MM	12.3 AR	I5H	CC2
Sphere Max	>50	>50	>50	>50
Opera Ultra	>50	>50	>50	>50
Aproach prima	>50	>50	>50	>50
Orkestra	>50	>50	>50	>50
Elatus	0,1 - 1	>50	>50	>50
Ativum	10 - 50	>50	>50	>50
Score	10 - 50	>50	>50	1 - 10
Score Flexi	1 - 10	10 - 50	10 - 50	1 - 10
Unizeb gold	>50	>50	>50	>50
Glider	>50	>50	>50	>50

¹ Intervalo entre concentrações, em que podem-se encontrar valores de 100% de inibição do crescimento micelial. *C. truncatum* (8.2 MM e 12.3 AR) e *C. cliviae* (I5H e CC2).

A mistura comercial Azoxistrobina + benzovindiflupir (Elatus) inibiu o crescimento micelial do isolado 8.2 MM num intervalo entre as concentrações 0,1 e 1

ppm. Souza (2018) encontrou resultados semelhantes para esse fungicida sobre isolados de *C. truncatum*. Porém esse dado diverge ao comparar com os outros isolados, que não tiveram o crescimento micelial inibido completamente mesmo na concentração 50 ppm.

As misturas comerciais contendo triazol + estrobirulina testadas não foram eficientes para inibir o crescimento micelial até a concentração 50 ppm. Os multissítios (mancozebe e clorotalonil) também não inibiram completamente o micélio dos isolados. Esse dado é diferente do encontrado por SOUZA (2018), em que o crescimento micelial de isolados de *C. truncatum* foi inibido por baixas concentrações de clorotalonil.

TAVARES & SOUZA (2005) testando a sensibilidade a fungicidas “in vitro” de um isolado de *Colletotrichum gloeosporioides* descreveram como maior que 1000 ppm a concentração de clorotalonil para inibir completamente o crescimento micelial (CMI). Ensaio sobre a sensibilidade de isolados de fungos a fungicidas são importantes para o monitoramento de resistência (REIS et al., 2015). É uma atividade essencial para o desenvolvimento de medidas de controle eficientes. A aplicação contínua de fungicidas nas lavouras resulta na seleção de indivíduos menos sensíveis em populações de *Colletotrichum*.

Os resultados demonstram que os isolados de *C. cliviae*, espécie descrita recentemente no Brasil, já apresentam baixa sensibilidade a alguns dos principais fungicidas utilizados no campo. Um baixo controle pode favorecer a espécie a se disseminar pelas regiões produtoras. Além da soja, *C. cliviae* já foi relatado causando antracnose em outras espécies botânicas de importância econômica, como a goiaba.

Controle da antracnose da soja causada por *Colletotrichum cliviae* e *Colletotrichum truncatum*

A detecção de antracnose se deu cerca de 40 dias após a inoculação, no início da fase reprodutiva da soja. Os sintomas observados foram manchas necróticas escuras nas nervuras e nos pecíolos (Figura 1). Foi observado que nos pecíolos doentes logo os trifólios caíam, causando desfolha e servindo como fonte de inóculo para o resto das plantas, visto que o fungo esporula nas partes da planta que caíam no chão, podendo servir como fonte de dispersão por respingos de água.

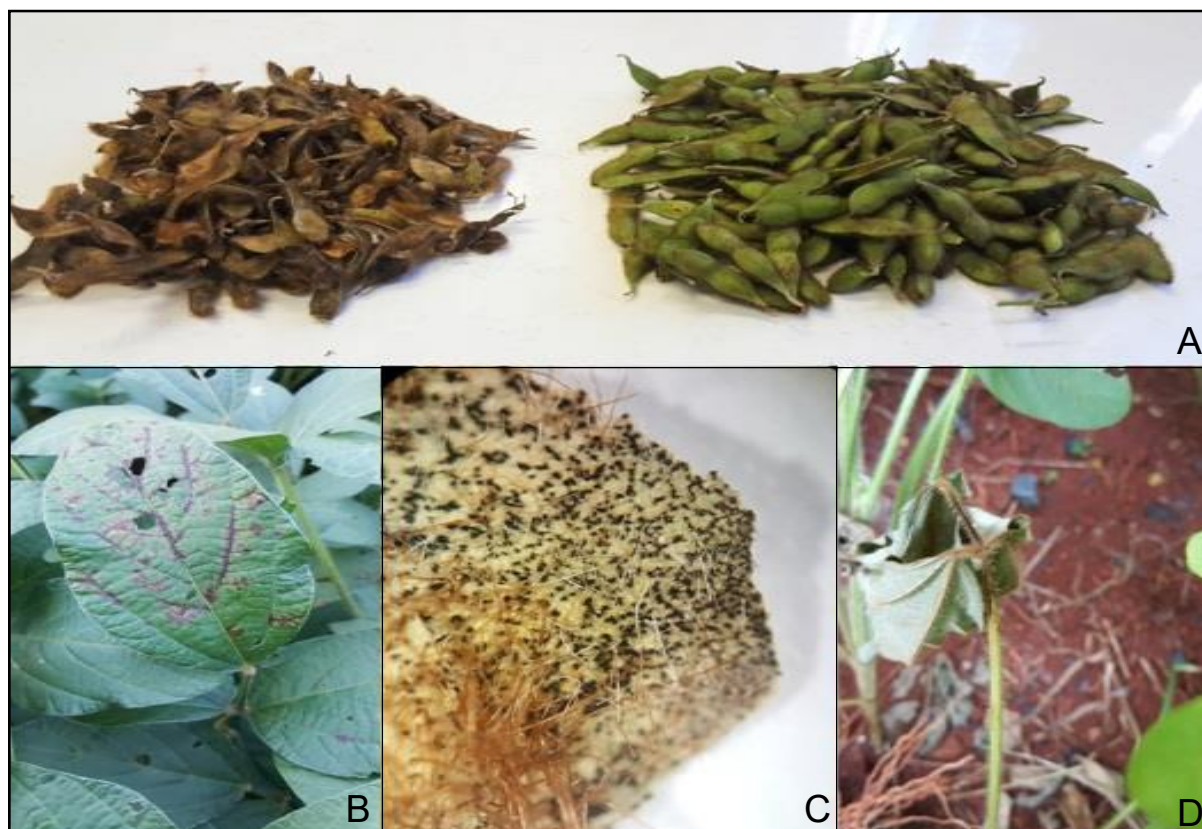


Figura 1. A) Vagens com antracnose vs. sadias; B) Sintoma de antracnose em folhas; C) Acérvulos de *Colletotrichum* em vagem de soja; D) Necrose em pecíolo de soja.

Mesmo nas parcelas não inoculadas foi detectada a incidência de antracnose (Tabela 4) no estágio R5, quando foi feita a avaliação. Contudo a incidência nessas parcelas foi menor do que nas parcelas inoculadas. A incidência não diferiu entre os tratamentos com fungicida, tanto nas parcelas inoculadas quanto nas não inoculadas.

Tabela 4. Incidência média de antracnose em soja em parcelas não inoculadas e inoculadas com *C. truncatum* e *C. cliviae* sob tratamento de fungicidas.

Tratamento	Incidência (%)		
	Não inoculada	<i>C. truncatum</i>	<i>C. cliviae</i>
Testemunha	2.80 aA	5.94 aB	7.11 aB
Score Flexi®	2.31 aA	5.25 aA	9.35 aB
Sphere Max®	2.23 aA	6.13 aB	7.28 aB
Orkestra®	2.42 aA	6.75 aB	6.01 aB
Elatus®	1.85 aA	6.19 aB	4.96 aB
Ativum®	2.28 aA	7.65 aB	6.45 aB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Em um estudo no Tocantins, na safra 2011/2012, DIAS et al. (2016) não verificou diferença na incidência da antracnose em vagens entre a testemunha e os tratamentos químicos: clorotalonil, trifloxistrobina + tebuconazol + carbendazim, trifloxistrobina + protioconazol, trifloxistrobina + ciproconazol, picoxistrobina + tebuconazol + carbendazim, piraclostrobina + epoxiconazol, azoxistrobina + ciproconazol, trifloxistrobina + tebuconazol e picoxistrobina + ciproconazol, o que está de acordo com os dados encontrados no presente trabalho.

Em outro estudo no Paraná, ADAMI et al. (2006) observaram pouca ou nenhuma diferença entre os tratamentos químicos utilizados no controle da antracnose da soja, avaliando os parâmetros produtividade, peso de mil grãos, número de vagens por planta e severidade. A ausência de diferenças entre os tratamentos e as parcelas não tratadas pode ser explicada pela baixa incidência de antracnose devido a condições climáticas desfavoráveis a disseminação e infecção de *Colletotrichum*.

No Mato Grosso do Sul PESQUEIRA et al. (2016) observou que produtos recomendados para a ferrugem asiática da soja, misturas comerciais de triazol + estrobirulina, em alguns casos não diferiram da testemunha no controle de antracnose.

Nas parcelas inoculadas, todos os tratamentos, exceto Score Flexi®, apresentaram incrementos na produtividade (Tabela 5). O fungicida Elatus® proporcionou altos ganhos de produtividade nas três condições testadas.

Não houve relação entre a incidência de antracnose em vagens com a produtividade. Os incrementos de produtividade nas parcelas tratadas com fungicidas em relação as parcelas não tratadas, pode ser explicado em função do controle de outras doenças além da antracnose. Além disso outros parâmetros que influenciam na produtividade e podem ter influência da antracnose, como a desfolha, não foram quantificados nesse trabalho.

Tabela 5. Produtividade média de soja em parcelas não inoculadas e inoculadas com *C. truncatum* e *C. cliviae* sob tratamento de fungicidas.

Tratamento	Produtividade (kg.ha ⁻¹)			Médias
	Não inoculada	<i>C. truncatum</i>	<i>C. cliviae</i>	
Testemunha	1.942,43 bC	1.759,09 cC	1.781,06 cC	1.827,53
Score Flexi®	2.337,88 bB	1.918,94 cC	1.934,85 cC	2.063,89
Sphere Max®	2.251,51 bB	2.146,97 bB	2.273,49 bB	2.223,99
Orkestra®	2.055,30 bC	2.430,31 aB	2.367,42 bB	2.284,34
Elatus®	2.844,70 aA	2.521,97 aA	2.627,27 aA	2.664,65
Ativum®	2.275,00 bB	2.022,73 bC	2.681,82 aA	2.326,52
Médias	2.284,47	2.133,34	2.277,65	
CV (%)				11,13

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Foram detectadas seis espécies de fungos nos lotes de sementes analisados (*Phomopsis sojae*, *Cercospora kikuchii*, *Fusarium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Aspergillus* spp, e *Penicillium* spp,) além da detecção de *Colletotrichum cliviae* e *C. truncatum*, sendo que estas duas últimas só ocorreram nos lotes de parcelas inoculadas (Tabela 6), Observou-se maior prevalência de *C. kikuchii* independente do tratamento químico utilizado, O total de sementes com incidência desse fungo corresponde a 12% do total de sementes analisadas, Também foram expressivas as incidências de *Phomopsis*, *Fusarium* e *Sclerotinia*,

Com relação a incidência de *Colletotrichum* em sementes, a porcentagem ficou em torno de 1,2%, este dado corrobora com os dados obtidos por PESQUEIRA et al, (2013), O fungicida Elatus foi eficiente em evitar a infecção de sementes mesmo em parcelas inoculadas (T11 e T17),

Em um estudo feito por SATO (2018) a incidência de *C. truncatum* nas sementes ficou em 0,8%, além disso, esse mesmo autor concluiu que a aplicação foliar de fungicidas na soja não evita a infecção de sementes por patógenos,

A infecção de *Colletotrichum* nas sementes é um meio de dispersão do fungo a longas distâncias, serve como fonte de inóculo inicial de uma lavoura e reduz a germinação e emergência de plantas de soja, O tratamento de sementes pode ser uma alternativa para o controle em lotes de sementes infectados (GALLI et al., 2005; PEREIRA et al., 2009).

Tabela 6. Incidência de fungos associados a sementes de soja.

Tratamento	Phs	Cct	Ck	Fs	Scs	Ass	Pns
	Incidência em sementes (%)						
1	2	-	4	-	-	3	4
2	1	-	11	2	-	-	-
3	-	-	20	2	3	1	-
4	4	-	21	1	-	-	1
5	5	-	3	3	5	-	-
6	-	-	10	1	-	3	-
7	2	1	13	1	-	-	-
8	-	1	9	1	1	-	-
9	2	4	13	2	2	-	-
10	2	6	11	1	-	-	-
11	1	-	15	1	-	-	-
12	2	3	26	1	1	-	-
13	-	1	9	2	-	1	-
14	-	-	5	1	-	1	-
15	2	1	12	3	-	-	-
16	3	4	9	1	-	-	-
17	3	-	15	1	1	-	-
18	3	2	14	1	1	-	-

Phs - *Phomopsis sojae*; Cct - *Colletotrichum cliviae* e *C. truncatum*; Ck - *Cercospora kikuchii*; Fs - *Fusarium spp*; Scs - *Sclerotinia sclerotiorum*; Ass - *Aspergillus spp* e Pns - *Penicilium spp*,

6 CONCLUSÕES

Os isolados apresentaram reações diferentes quanto a sensibilidade aos fungicidas *in vitro*;

C. cliviae mostrou-se como uma espécie com sensibilidade baixa aos fungicidas;

A mistura comercial Azoxistrobina + benzovindiflupir (Elatius®) foi eficiente para evitar a infecção de sementes por *Colletotrichum*;

A aplicação foliar de fungicidas resultou em incrementos de produtividade da ordem de 13 a 46%.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A, M, R,;; FERREIRA, L, P,;; YORINORI, J, T,;; SILVA, J, F, V,;; HENNING, A, A,, Doenças da soja (*Glycine max*), In: KIMATI, H,;; AMORIM, L,;; REZENDE, J, A, M,;; BERGAMIM FILHO, A,;; CAMARGO, L, E, A, (Ed,), **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, 4, ed, São Paulo: Agonômica Ceres, v, 2, 706 p, 1997.
- ARAÚJO, A,G,;; CAFÉ-FILHO, A,C,;; CUPERTINO, F,P, Antracnose da soja na região geoeconômica do Distrito Federal, **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v, 13, p, 130, 1988.
- AVOZANI A, **Sensibilidade de *Corynespora cassiicola*, isolados da soja, a fungicidas in vitro**, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Passo Fundo RS, Brasil, 2011.
- BARBIERI, M, C, G,;; CIAMPI-GUILLARDI, M,;; MORAES, S, R, G,;; BONALDO, S, M,;; ROGÉRIO, F,;; LINHARES, R, R,;; MASSOLA JÚNIOR, N, S, First report of *Colletotrichum cliviae* causing anthracnose on soybean in Brazil, **Plant Disease**, v, 101, p, 1677, 2017.
- BESTOR, N, R, C,;; ROBERTSON, A, E,;; MUELLER, D, S, Effect of foliar fungicides on late-season anthracnose stem blight on soybean, **Plant Health Research**, v, 15, n, 3, p, 118-121, 2011.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, **Regras para análise de sementes**, Brasília, DF: SNDA/DNDV/CLAV, 1992, 365 p.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Agrofit: sistema de agrotóxicos fitossanitários**, 2012, Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>, Acesso: 26 jul, 2018.
- CASSETARI NETO, D,;; SANTOS, E,N,;; PRADE, A,G,;; ZAMBENEDETTI, E,B,;; LEITE, J,J,;; VALCANAIÁ, E,;; ARAUJO, D,V,;; ANDRADE, J,R,;; AVILA, W,P,;; CAYE, S, & ARNHOLD, D, Avaliação de fungicidas no controle de doenças em soja no Mato Grosso, **Fitopatologia Brasileira**, v, 26, p, 334, 2001, Suplemento.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento, **Boletim Grãos Junho 2018**, Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>, Acesso em: 26 jul, 2018.
- COSTA, I, F, D,;; BALARDIN, R, S,;; MEDEIROS, L, A, M,;; BAYER, T, M, Resistência de seis cultivares de soja ao *Colletotrichum truncatum* (Schwein) em dois estádios fenológicos, **Ciência Rural**, v, 36, n, 6, p, 1684-1688, 2006.
- COSTA, I, F, D,;; BALARDIN, R, S,;; MEDEIROS, L, A, M,;; LENS, G,;; GULART, C, A,;; ZEMOLIN, C, R,;; SILVA, T, M, B, Reação de germoplasma comercial de soja a *Colletotrichum truncatum*, **Tropical Plant Pathology**, v, 34, n, 1, p, 47-50, 2009.

DIAS, M, D,; FONSECA, M, E, N,; DIAS-NETO, J, J,; SANTOS, M, D,; PANDOLFO, G, M,; BOITEUX, L, S,; & CAFÉ-FILHO, A, C, Biology, pathogenicity, and haplotype analyses of *colletotrichum cliviae*: a novel soybean anthracnose agent in warm tropical areas, **Tropical Plant Pathology**, p, 1-13, 2018.

DIAS, M,D, **Etiologia, diversidade do agente causal e controle químico da antracnose da soja**, 2014, xvii, 128 f., il, Tese (Doutorado em Fitopatologia) — Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

DIAS, M,D,; PINHEIRO, V,F,; CAFÉ-FILHO, A,C, Impact of anthracnose on the yield of soybean subjected to chemical control in the north region of Brazil, **Summa Phytopathologica**, v,42, n,1, p,18-23, 2016.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária, **Características da soja**, Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/soja/arvore/CONTAG01_24_271020069131.html>, Acesso em: 23 set, 2018.

F, A, O, Meeting Report, No, PL/1967/M/7, Rome: FAO, 1968.

FAO, Report of the first session of the F, A, O, **Panel of experts on integrated pest** FEHR, W,R,; CAVINESS, C,E, **Stages of soybean development** (Special Report, 80), Iowa State University, Ames, 12p, 1977.

FERREIRA, Daniel Furtado, Sisvar: a computer statistical analysis system, **Ciênc, Agrotec**, [online], 2011, vol,35, n,6 [cited 2018-11-09], pp,1039-1042.

FRAC, **FRAC Code List, 2018**: Fungicidas sorted by mode of action (including FRAC Code numbering), 2018, Disponível em <http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac_code_list_2018-final.pdf?sfvrsn=6144b9a_2> Acesso em: 26 set, 2018.

GALLI, J,A,; PANIZZI, R, de C,; FESSEL, S,A,; SIMONI, F, de; ITO, M,F, Efeito de *Colletotrichum dematium* var, *truncata* e *Cercospora kikuchii* na germinação de sementes de soja, **Revista Brasileira de Sementes**, v,27, p,182-187, 2005.

GHINI, R,; KIMATI, H, **Resistência de Fungos a Fungicidas**, Jagariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 78 p,, 2000.

HENNING, A, A,, ALMEIDA, A, M, R,, GODOY, C, V,, SEIXAS, C, D, S,, YORINORI, J, T,, COSTAMILAN, L, M,, FERREIRA, L, P,, MEYER, M, C,, SOARES, R, M,, DIAS, W, P, Manual de identificação de doenças de soja 5ª edição, 2014, Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/105942/1/Doc256-OL.pdf>>, Acesso em: 23 set, 2018.

KLINGELFUSS, L,H, & YORINORI, J,T, Infecção latente de *Colletotrichum truncatum* e *Cercospora kikuchii* em soja, **Fitopatologia Brasileira**, v, 26:158-164, 2001.

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**, v, 26, n, 3, p, 662, 2001.

MENEZES, Maria, Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*, **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma**, v, 3, p, 170-179, 2013.

OLIVEIRA, V, A.; MARTINS, L, P.; GONÇALVES, R, C.; BENÍCIO, L, P, F.; COSTA, D, L.; LUDWIG, J, Us of seed treatment with fungicide in control of *Colletotrichum truncatum* and physiological quality of soybean seeds *Glycine max*, **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v, 4, n, 2, p, 98-106, 2013.

PEREIRA, C, E.; OLIVEIRA, J, A.; ROSA, M, C, M.; OLIVEIRA, G, E; NETO, J, C, Tratamento fungicida de sementes de soja inoculadas com *Colletotrichum truncatum*, **Ciência Rural**, v, 39, n, 9, p, 2390-2395, 2009.

PESQUEIRA, A, da S., BACCHI, L,M,A, & GAVASSONI, W, L, 2016, Associação de fungicidas no controle da antracnose da soja no Mato Grosso do Sul, **Revista Ciência Agrônoma**, 47(1): 203-212.

REIS, E, M.; BARUFFI, D.; REMOR, L; ZANATTA, M, Decomposition of corn and soybean residues under field conditions and their role as inoculum source, **Summa Phytopathologica**, v, 37, n, 1, p, 65-67, 2011.

REIS, E, M.; ZANATTA, M.; CARMONA, M.; MENTEN, J, O, M, Relationship between IC50 determined *in vitro/in vivo* and the fungicide rate used in the field, **Summa Phytopathologica**, v, 41, n, 1, p, 49-53, 2015.

ROGÉRIO, F.; CIAMPI-GUILLARDI, M.; BARBIERI, M,C,G.; BRAGANÇA, CAD;; SEIXAS, CDS.; ALMEIDA, AMR.; MASSOLA, NS, Phylogeny and variability of *Colletotrichum truncatum* associated with soybean antracnose in Brazil, **Journal of Applied Microbiology** v, 122, p,402–415, 2016.

SILVA, B, S, **Sensibilidade de isolados de colletotrichum truncatum da soja a fungicidas**, 2018, 109 f, Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, 2018.

SATO, I, Y, **Efeito da pulverização foliar de fungicidas durante o ciclo da cultura sobre a incidência de fungos em sementes de soja**, 22p, Monografia (Graduação em Agronomia), Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

TAVARES, G, M., & DE SOUZA, P, E, Effects of fungicides on the *in vitro* control of *Colletotrichum gloeosporioides*, the anthracnosis etiologic agent of the Papaya tree (*Carica papaya* L.), **Ciência e Agrotecnologia**, v, 29, n, 1, p, 52-59, 2005.

ZANATTO, I, B.; BONALDO, S, M.; PEREIRA, C, S, Fungicidas e extrato etanólico de própolis no controle de doenças de final de ciclo da cultura da soja, **Revista de Ciências Agrárias**, 41(1), 171-180, 2018.

APÊNDICES

Apêndice A - Porcentagem de inibição do crescimento micelial do isolado de *C. cliviae* I5H.

Fungicidas	Concentrações (ppm)				
	0,01	0,1	1	10	50
Sphere Max	16,61	23,68	28,52	35,51	45,87
Opera Ultra	23,66	25,72	38,53	74,78	91,52
Aproach Prima	16,45	17,90	27,26	37,14	46,06
Orkestra	20,44	23,43	40,92	72,11	71,97
Elatus	6,20	60,66	100,00	100,00	100,00
Ativum	18,20	26,10	38,11	80,73	100,00
Score	3,55	6,59	32,92	78,65	100,00
Score Flexi	2,39	14,39	40,36	100,00	100,00
Unizeb Gold	2,99	4,93	4,17	9,75	38,07
Glider	6,24	12,52	28,93	45,89	51,97

Apêndice B - Porcentagem de inibição do crescimento micelial do isolado de *C. cliviae* CC2.

Fungicidas	Concentrações (ppm)				
	0,01	0,1	1	10	50
Sphere Max	5,81	15,70	25,14	31,14	47,83
Opera Ultra	9,09	15,89	43,96	63,48	72,24
Aproach Prima	-6,57	6,90	10,36	28,27	32,48
Orkestra	7,83	3,13	47,04	78,25	74,90
Elatus	-3,20	1,54	20,88	36,08	39,80
Ativum	-3,74	11,22	36,41	74,04	82,62
Score	12,32	30,93	67,31	100,00	100,00
Score Flexi	9,22	28,49	66,03	100,00	100,00
Unizeb Gold	0,80	-0,85	5,29	14,87	35,46
Glider	3,32	5,34	21,65	35,56	38,76

Apêndice C - Porcentagem de inibição do crescimento micelial do isolado de *C. truncatum* 8,2MM.

Fungicidas	Concentrações (ppm)				
	0,01	0,1	1	10	50
Sphere Max	16,61	23,68	28,52	35,51	45,87
Opera Ultra	23,66	25,72	38,53	74,78	91,52
Aproach Prima	16,45	17,90	27,26	37,14	46,06
Orkestra	20,44	23,43	40,92	72,11	71,97
Elatus	6,20	60,66	100,00	100,00	100,00
Ativum	18,20	26,10	38,11	80,73	100,00
Score	3,55	6,59	32,92	78,65	100,00
Score Flexi	2,39	14,39	40,36	100,00	100,00
Unizeb Gold	2,99	4,93	4,17	9,75	38,07
Glider	6,24	12,52	28,93	45,89	51,97

Apêndice D - Porcentagem de inibição do crescimento micelial do isolado de *C. truncatum* 12AR.

Fungicidas	Concentrações (ppm)				
	0,01	0,1	1	10	50
Sphere Max	5,24	3,27	2,04	9,06	14,94
Opera Ultra	4,48	10,85	10,95	25,45	50,30
Aproach Prima	8,02	7,22	6,74	10,22	13,63
Orkestra	0,22	1,31	1,65	12,60	13,50
Elatus	-2,69	17,46	82,25	90,52	89,59
Ativum	7,07	3,83	13,49	36,93	57,48
Score	1,18	7,47	38,01	68,12	95,79
Score Flexi	0,84	6,26	39,39	79,11	100,00
Unizeb Gold	-1,84	-5,08	-0,02	4,78	21,50
Glider	-1,61	1,60	16,88	26,46	30,65

Nota: os valores negativos significam que não houve efeito de inibição do crescimento micelial e indicam a porcentagem que o isolado cresceu a mais que a testemunha.