

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS - PPGPP

JACKELINE LAURENTINO DA SILVA

**SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À
ANTRACNOSE DO MARACUJAZEIRO UTILIZANDO O CONTROLE
QUÍMICO E BIOLÓGICO.**

RIO LARGO - AL

2024

JACKELINE LAURENTINO DA SILVA

**SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À
ANTRACNOSE DO MARACUJAZEIRO UTILIZANDO O CONTROLE
QUÍMICO E BIOLÓGICO.**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção de grau de Doutora em Proteção de Plantas.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Iraildes Pereira Assunção

Coorientador (a): Prof^a. Dr^a. Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa

RIO LARGO - AL

2024

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

S586s Silva, Jackeline Laurentino da
Sensibilidade de espécie de *Colletotrichum* associadas à antracnose do maracujazeiro utilizando o controle químico e biológico. / Jackeline Laurentino da Silva – 2024.
90 f.; il.

Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias. Rio Largo, 2024.

Orientação: Dra. Iraídes Pereira Assunção
Coorientação: Dra. Jaqueline Figueiredo de Oliveira Costa

Inclui bibliografia

1. Biofungicida. 2. Fitopatógenos. 3. Fungicidas. I. Título

CDU: 632.9

Folha de Aprovação

JACKELINE LAURENTINO DA SILVA

SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À
ANTRACNOSE DO MARACUJAZEIRO UTILIZANDO O CONTROLE QUÍMICO
E BIOLÓGICO.

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Proteção de Plantas.

Aprovado em: 28/02/2024

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente



IRAILDES PEREIRA ASSUNCAO

Data: 18/04/2024 08:16:38-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a. Dr.^a Iraildes Pereira Assunção (Orientadora) - Universidade Federal de Alagoas/UFAL

Documento assinado digitalmente



GILDEMBERG AMORIM LEAL JUNIOR

Data: 18/04/2024 06:10:52-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Gildemberg Amorim Leal Junior (Presidente) - Universidade Federal de Alagoas/UFAL

Documento assinado digitalmente



SARAH JACQUELINE CAVALCANTI DA SILVA

Data: 16/04/2024 09:27:41-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a. Dr.^a. Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva (Interno) - Universidade Federal de Alagoas/UFAL

Documento assinado digitalmente



EDNA PEIXOTO DA ROCHA AMORIM

Data: 15/04/2024 20:04:14-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a. Dr.^a Edna Peixoto da Rocha Amorim (Interno) - Universidade Federal de Alagoas/UFAL

Documento assinado digitalmente



JULIANA PAIVA CARNAUBA

Data: 08/04/2024 13:18:54-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a. Dr.^a Juliana Paiva Carnaúba (Externo) - Universidade Federal de Alagoas/UFAL

AGRADECIMENTOS

Gratidão a Deus, acima de tudo, por ser minha fortaleza nos momentos de dificuldade, me mantendo de pé diante de todos os desafios.

Agradeço à minha família. Aos meus pais, Maria Aparecida da Silva e Severino Laurentino da Silva, pelo amor incondicional, apoio, investimento e incentivo em todas as horas. Aos meus irmãos Jacksilane L. da Silva e Jackson L. da Silva e minhas sobrinhas Rhana e Raíra, pelo companheirismo e amor. Ao meu namorado, João Pedro Braz dos Santos, pelo amor, incentivo e companheirismo em todas as horas. Ao meu filho, João Fernando, não só agradeço como também te dedico este trabalho. Sou muito Grata a Deus pela sua vida! Em você habita um brilho único e uma vontade de viver que contagiar a todos. Você faz a diferença no mundo em que vivemos. A vocês todo meu amor e gratidão.

A Prof^a. Dr^a. Iraildes Pereira Assunção pela confiança e orientação desde a iniciação científica ao doutorado.

Ao Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima pela confiança e oportunidade.

A Prof^a. Dr^a. Jaqueline Figueredo Oliveira Costa por ir além da orientação e se tornar um exemplo a seguir como pessoa e profissional. Você é luz! Obrigada por tudo!

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias pelos ensinamentos que contribuíram para minha formação.

Aos colegas da Clínica Fitossanitária e Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal pela ajuda mútua e ensinamentos. Em especial à Maria Jussara e Lauristela Hermógenes por ser ombro amigo em todos os momentos. A Cecília Hernandez, por toda ajuda e parceria em bancada. Quero levar essas amigas para sempre comigo.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho.

RESUMO GERAL

O maracujazeiro (*Passiflora* spp.) é uma das principais frutíferas tropicais cultivadas no Brasil que é o maior produtor mundial. A antracnose, causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, é um dos principais fatores que contribuem para a redução da produção. Conhecendo a importância desse patógeno para cultura e a grande diversidade de espécies deste gênero fúngico é essencial desenvolver técnicas adequadas de controle da doença. Diante disso, os objetivos deste estudo foram avaliar *in vitro* e em mudas de maracujazeiro os efeitos dos fungicidas Difenconazole, Piraclostrobina, Flutriafol e Azoxistrobina + Difenconazole, e do microrganismo *Trichoderma harzianum* sobre *Colletotrichum plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. theobromicola*, *C. tropicale* e *C. fructicola*. Na avaliação *in vitro* da sensibilidade de *Colletotrichum* spp. aos fungicidas, os patógenos foram inoculados em meio de cultura BDA suplementado com as concentrações estabelecidas para cada fungicida. Nas avaliações *in vivo*, foram utilizadas mudas sadias de maracujá do cerrado nos tratamentos preventivos e curativos. No tratamento preventivo, foi pulverizado o fungicida e após 48 horas os isolados de *Colletotrichum* foram inoculados, enquanto no tratamento curativo as mudas foram inoculadas com o patógeno e após o surgimento das lesões foi pulverizado o fungicida. Avaliando *Trichoderma* no teste de pareamento, foram utilizados discos de papel filtro umedecidos na suspensão de esporos de *Colletotrichum* (2×10^6 conídios/mL) e colocados na borda de placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA – Kasvi) sintético. Após 72 horas o mesmo procedimento foi realizado utilizando Trichodermil SC 1306® (*T. harzianum*), nas concentrações 0,5; 1,0 e 1,5 L/ha, colocando o disco de papel umedecido na direção oposta aos fitopatógenos. A testemunha foi composta apenas da placa com as espécies de *Colletotrichum*. Para avaliação da ação de metabólitos, plugs contendo estruturas de cada espécie de *Colletotrichum* foram colocados no centro de placas de Petri, separadamente. Após 48 horas, foram colocados plugs de *Trichoderma harzianum* em placas contendo meio BDA sintético. As bases das placas inoculadas com antagonista e as bases com *Colletotrichum* spp. fitopatógenos foram sobrepostas, unidas e vedadas. Para testemunha, foi sobreposta uma base inoculada com um disco com as estruturas do patógeno e a outra contendo apenas um disco de meio de cultura BDA. Para verificar a diferença entre os tratamentos testados no controle químico e biológico, foram estimados o índice de crescimento micelial (IVCM) e a porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC). De forma geral, o fungicida piraclostrobina foi o mais eficiente tanto *in vitro* como *in vivo* no controle das espécies de *Colletotrichum*. Além disso *T. harzianum* é uma espécie promissora para a redução da antracnose das espécies associadas a antracnose na cultura do maracujazeiro.

Palavras-chave: Biofungicidas; Fitopatógenos; Fungicidas; *Passiflora*.

GENERAL SUMMARY

Passion fruit (*Passiflora* spp.) is one of the main fruit trees cultivated in Brazil, which is the largest producer in the world. Anthracnose, caused by species of the genus *Colletotrichum*, is one of the main factors that point to a reduction in production. Knowing the importance of this pathogen for culture and the great diversity of species of this fungal genus is essential to develop specific techniques to control the disease. Therefore, the objectives of this study were to evaluate *in vitro* and on passion fruit seedlings the effects of the fungicides Difenoconazole, Pyraclostrobin, Flutriafol and Azoxystrobin + Difenoconazole, and the microorganism *Trichoderma harzianum* on *Colletotrichum plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. theobromicola*, *C. tropicale* and *C. fructicola*. In the *in vitro* evaluation of the sensitivity of *Colletotrichum* spp. For fungicides, the pathogens were inoculated in PDA culture medium supplemented with the concentrations established for each fungicide. In *in vivo* evaluations, healthy cerrado passion fruit seedlings were used in preventive and curative treatments. In the preventive treatment, the fungicide was sprayed and after 48 hours the *Colletotrichum* isolates were inoculated, while in the curative treatment the seedlings were inoculated with the pathogen and after the lesions appeared, the fungicide was sprayed. Evaluating *Trichoderma* in the pairing test, filter paper discs were used moistened with a suspension of *Colletotrichum* spores (2×10^6 conidia/mL) and placed on the edge of Petri dishes containing synthetic Potato-Dextrose-Agar (BDA – Kasvi) culture medium. After 72 hours, the same procedure was performed using Trichodermil SC 1306® (*T. harzianum*), at concentrations 0.5; 1.0 and 1.5 L/ha, placing the moistened paper disc in the opposite direction to the phytopathogens. The control was composed only of the plate with the *Colletotrichum* species. To evaluate the action of metabolites, plugs containing structures from each *Colletotrichum* species were placed in the center of Petri dishes, separately. After 48 hours, *Trichoderma harzianum* plugs were placed in plates containing synthetic PDA medium. The bases of the plates inoculated with antagonist and the bases with *Colletotrichum* spp. phytopathogens were overlapped, joined and sealed. For control, an inoculated base was superimposed with a disc with the pathogen structures and the other containing only a disc of PDA culture medium. To verify the difference between the treatments tested in chemical and biological control, the mycelial growth index (IVCM) and the percentage of mycelial growth inhibition (PIC) were estimated. In general, the fungicide pyraclostrobin was the most efficient both *in vitro* and *in vivo* in controlling *Colletotrichum* species. Furthermore, *T. harzianum* is a promising species for reducing anthracnose of species associated with anthracnose in passion fruit crops.

Keywords: Biofungicides; Phytopathogens; Fungicides; Passionflower.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

- Figura 1:** Variedade sol do Cerrado. **A)** Mudanças com 30 dias; **B)** Transplante das mudas; **C)** Mudanças com 60 dias.40
- Figura 2:** Experimento *in vivo* - **A)** Mudanças inoculadas; **B)** Escoamento superficial do fungicida pulverizado (Curativo); **C)** Mudanças em câmara úmida.41
- Figura 3:** Teste de patogenicidade das espécies de *Colletotrichum*.42
- Figura 4:** Porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando o fungicida difenoconazole.44
- Figura 5:** Porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando o fungicida piraclostrobina. 45-45
- Figura 6:** Porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando o fungicida flutriafol.47
- Figura 7:** Porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando o fungicida Azoxistrobina + Difenconazole.48
- Figura 8:** Sensibilidade de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações do fungicida Difenconazole.52
- Figura 9:** Sensibilidade de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações do fungicida Piraclostrobina.53
- Figura 10:** Sensibilidade de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações do fungicida Flutriafol.54
- Figura 11:** Sensibilidade de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações do fungicida Azoxistrobina + Difenconazole.55
- Figura 12:** Sensibilidade *in vivo* de *Colletotrichum* spp. ao fungicida piraclostrobina.57
- ### CAPÍTULO II
- Figura 1:** Crescimento micelial de *Trichoderma harzianum* e *Colletotrichum* spp, ao quarto dia.74
- Figura 2:** Análise de regressão do índice de velocidade de crescimento micelial do *Trichoderma harzianum* e das espécies de *Colletotrichum*.75
- Figura 3:** Porcentagem de inibição micelial (PIC) das espécies de *Colletotrichum* utilizando *Trichoderma harzianum*, aos 7 dias.77
- Figura 4:** Teste de pareamento utilizando *Trichoderma harzianum* e *Colletotrichum* spp.. 79-80
- Figura 5:** Teste de metabólitos voláteis utilizando *Trichoderma harzianum* no controle de *Colletotrichum* spp.82

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1: Isolados de *Colletotrichum* provenientes de maracujazeiro..... 38

Tabela 2: Fungicidas utilizados nos testes de sensibilidade..... 39

Tabela 3: Médias da inibição de velocidade de crescimento micelial (IVCM) nas distintas concentrações dos fungicidas Difenconazole, Piraclostrobina, Flutriafol e Azoxistrobina + Difenconazole no controle de *Colletotrichum* spp..... 50

Tabela 4: Severidade da antracnose *in vivo* de *Colletotrichum* spp..... 56

CAPÍTULO II

Tabela 1: Isolados de *Colletotrichum*.....700

Tabela 2: Médias da inibição de velocidade de crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento micelial nas distintas concentrações de *Trichoderma harzianum* no controle de *Colletotrichum* spp..... 78

Tabela 3: Índice de velocidade de crescimento micelial e porcentual de inibição micelial *in vitro* de *Colletotrichum* spp. no teste de metabólitos voláteis com *Trichoderma harzianum*..... 81

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. Cultura do maracujazeiro	14
2.1.1. Aspectos botânicos do maracujazeiro	14
2.1.2. Importância econômica do maracujazeiro	16
2.1.3. Antracnose em maracujazeiro	17
3. MANEJO DA ANTRACNOSE EM MARACUJAZEIRO	18
3.1. Manejo químico	18
3.1.1. Difenconazole	18
3.1.2. Piraclostrobina	19
3.1.3. Flutriafol	20
3.1.4. Azoxistrobina +Difenconazole	21
3.2. Manejo biológico	22
3.2.1. <i>Trichoderma</i> spp.....	22
REFERÊNCIAS	25
Capítulo I: EFEITO <i>in vitro</i> E <i>in vivo</i> DE FUNGICIDAS SOBRE AS ESPÉCIES DE <i>Colletotrichum</i> ASSOCIADAS À ANTRACNOSE DO MARACUJAZEIRO	34
RESUMO	35
1. INTRODUÇÃO	36
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
2.1. Local do experimento, obtenção das espécies de <i>Colletotrichum</i>	38
2.2. Teste de patogenicidade das espécies de <i>Colletotrichum</i>	38
2.3. Efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial de <i>Colletotrichum</i> spp....	39
2.4. Efeito de fungicidas sobre <i>Colletotrichum</i> spp. em mudas de maracujazeiro.....	40
3. RESULTADOS.....	42

3.2. Efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial <i>in vitro</i> de <i>Colletotrichum</i> spp.....	43
3.3. Efeito de fungicidas sobre <i>Colletotrichum</i> spp. em mudas de maracujazeiro.....	56
4. DISCUSSÃO	58
5. CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS	63
Capítulo II: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTAGÔNICO DE <i>Trichoderma harzianum</i> SOBRE AS ESPÉCIES DE <i>Colletotrichum</i> ASSOCIADAS À ANTRACNOSE DO MARACUJAZEIRO	66
RESUMO	67
1. INTRODUÇÃO	68
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	71
2.1. Local do experimento, obtenção das espécies de <i>Colletotrichum</i>	70
2.2. Comparação do crescimento micelial das espécies de <i>Colletotrichum</i> e <i>Trichoderma harzianum</i>	70
2.3. Antagonismo <i>in vitro</i> de <i>T. harzianum</i> sobre espécies de <i>Colletotrichum</i> por pareamento.	71
2.4. Ação de metabólitos voláteis de <i>Trichoderma harzianum</i> sobre o crescimento micelial <i>Colletotrichum</i> spp.	73
2.5. Análise dos dados	73
3. RESULTADOS.....	74
3.1. Comparação do crescimento micelial das espécies de <i>Colletotrichum</i> e <i>Trichoderma harzianum</i>	74
3.2. Antagonismo <i>in vitro</i> de <i>T. harzianum</i> sobre espécies de <i>Colletotrichum</i> por pareamento.	75
3.3. Ação de metabólitos voláteis de <i>Trichoderma harzianum</i> sobre <i>Colletotrichum</i>	81
4. DISCUSSÃO	83
5. CONCLUSÃO	86
REFERÊNCIAS	87

1. INTRODUÇÃO

A família Passifloraceae é composta por doze gêneros com ampla diversidade morfológica, sendo o gênero *Passiflora* o que apresenta maior importância comercial, por possuir frutos altamente rico em nutrientes, que podem ser utilizados desde a polpa até a casca (MELETTI, 2011; JUNQUEIRA, 2005; SEBRAE, 2016). Além de apresentarem propriedades sedativas, ainda são utilizados nas indústrias farmacêuticas e cosméticas (ZERAİK et al., 2010).

A cultura do maracujá é considerada como uma alternativa agrícola promissora para o pequeno produtor, por desempenhar um importante papel socioeconômico, principalmente no Brasil, que se destaca globalmente como o maior produtor mundial (EMBRAPA, 2023), além de gerar empregos no campo e na indústria, movimentando e enriquecendo o mercado brasileiro no setor da fruticultura (IBGE, 2022; COSTA et al., 2005; RUGGIERO, 2000). A facilidade no cultivo, o rápido retorno econômico e a oportunidade de uma receita distribuída pela maior parte do ano, contribuem para o sustento familiar de pequenos e médios produtores (MELETTI, 2011).

Ao longo dos anos observa-se um aumento extensivo dos plantios de maracujazeiro, com o objetivo de elevar a produção, em decorrência dos investimentos em tecnologia em toda a cadeia da cultura. No entanto, toda essa tecnologia não impediu essa frutífera a ser acometida por doenças economicamente importantes (VIANA et al., 2003; CAVICHIOLI, 2016). Nesse contexto, diversos gêneros fúngicos já foram relatados na literatura como agentes de doenças em potencial para a cultura do maracujazeiro (OLIVEIRA et al., 2013; CAVICHIOLI, 2016; ROSADO et al., 2019; MELO et al., 2020; SILVA et al., 2022). Dentre os fungos, destacam-se as espécies do gênero *Colletotrichum* por ser responsável por ocasionar a antracnose em diversas culturas de importância econômica (CANNON et al., 2012; DOYLE et al., 2013; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS & BARONCELLI, 2021; LIU et al., 2022).

Nesse sentido, vários estudos têm sido realizados no intuito de elevar a produtividade, visando principalmente, o manejo fitossanitário que é fundamental para o sucesso da cultura do maracujazeiro (CAVICHIOLI, 2016). Dentre os diversos manejos utilizados na cultura para diminuir a incidência da antracnose, destaca-se o manejo

químico que realizado de forma adequada e consciente é um dos mais importantes métodos de manejo de doenças, considerado eficiente e economicamente viável, garantindo alta produtividade e qualidade da produção (AMORIM et al., 2018). Em contrapartida, um controle complementar e eficaz é o uso dos fungicidas biológicos, como por exemplo, espécies de *Trichoderma* que têm sido conhecidas há alguns anos como potencial agente de controle biológico (BAE & KNUDSEN, 2005). Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do controle químico e biológico sobre o crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cultura do maracujazeiro

As plantas geneticamente conhecidas como maracujazeiro (*Passiflora* spp.) pertencem a família Passifloraceae, composta por 18 gêneros, sendo *Passiflora* o mais expressivo em número de espécies, estimando-se em mais de 500, onde 150 são nativas do Brasil, um dos maiores centros de diversidade (VANDERPLANK, 1996; LOPES, 1991; CROCHEMORE et al., 2003). Segundo sua classificação taxonômica pertence ao reino Plantae, filo Tracheophyta, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Malpighiales, família Passifloraceae, gênero *Passiflora* (MILWARD-DE-AEVEDO, 2018).

Dentre as espécies deste gênero que produzem frutos comestíveis estão: *Passiflora edulis* Sims (maracujá roxo), *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. (maracujá-amarelo), *P. alata* Curtis (maracujá-doce, maracujá-açu), *P. maliformis* Linn. (maracujá cabaça doce, maracujá maçã, maracujá de osso), *P. setacea* (maracujazeiro-sururuca, maracujazeiro-do-sono, maracujazeiro-de-veado), *P. nitida* Kunth (maracujá-suspiro, maracujá-do-cerrado), *P. cincinnata* Mast., (maracujá-do-mato), *P. gibertii* e *P. quadrangularis* L. (maracujá-de-quilo, maracujá-gigante, badea), porém, as espécies *P. edulis* (maracujá roxo) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (maracujá-amarelo) são as mais utilizadas em plantios comerciais devido a qualidade dos frutos para consumo (ARAÚJO, 2009).

2.1.1. Aspectos botânicos do maracujazeiro

O maracujazeiro é uma planta trepadeira herbácea e/ou lenhosa, de crescimento vigoroso e contínuo, perene, de rápido crescimento e frutificação precoce, pode atingir 5 a 10 m de comprimento (RUGGIERO et al., 2000). Apresenta gavinha, apêndice filamentosos, solitárias e axilares que podem ser robustas e tênues. Possuem movimentos chamado de tigmotropismo, e conseguem se enrolarem a suportes para manterem-se fixas (BRUCKNER et al., 2005).

O caule é cilíndrico, angular e raramente quadrangular de onde surgem as gemas vegetativas, das quais, cada uma dará origem a uma folha, uma gavinha e uma flor (MELETTI, 2005). O sistema radicular é superficial do tipo pivotante ou axial, e

apresenta maior concentração na profundidade entre 0 e 45cm do solo. As raízes médias e a central são responsáveis pela sustentação da planta, enquanto as pequenas têm a função de absorção de água e nutrientes (KUDO, 2004).

As folhas são bastante variáveis em relação à forma, variando entre espécies e até mesmo dentro a mesma espécie ou planta. As folhas são alternadas e inicialmente são ovaladas e sem lobos. Dentro desse polimorfismo foliar podemos observar as seguintes formas: lobada, digitada, elíptica, ovada, serreada, lisa, glandulosa e subcoriácea (CERVI, 1997). Em sua base, encontram-se brácteas foliáceas que apresentam folhas modificadas e possuem a função de atrair animais polinizadores. Sob estresse, as folhas do maracujazeiro tendem a cair e voltam a brotar no início do ciclo seguinte da cultura (LEITÃO FILHO & ARANHA, 1974).

As flores do maracujazeiro são hermafroditas e vistosas e tem em sua base brácteas foliares. Crescem isoladamente a partir da quinta axila das folhas dos ramos novos. São diclamídeas, apresentando um cálice tubuloso, constituído por cinco sépalas oblongas e esverdeadas e uma corola formada por cinco pétalas oblongas. A corola é seguida por uma corona, que é constituída por cinco séries de filamentos, que é uma característica deste gênero, e, na sua base está localizado o opérculo, que protege a câmara nectarífera (BRUCKNER et al., 2005; OLIVEIRA; FALEIRO; JUNQUEIRA, 2020).

No centro da flor observa-se um tubo andrógino, em cuja base se localiza o ovário. Em sua parte inferior, se inserem cinco filetes terminados por anteras bem desenvolvidas, em cuja parte superior desenvolvem-se os estigmas (BRUCKNER et al., 2005; OLIVEIRA; FALEIRO; JUNQUEIRA, 2020).

O pólen apresenta coloração creme e é pesado, o que desfavorece a polinização pelo vento (BRUCKNER et al., 2005; OLIVEIRA; FALEIRO; JUNQUEIRA, 2020). Além disso, Bruckner et al. (1995) afirmam que a frutificação é inteiramente dependente da polinização cruzada, em virtude da autoincompatibilidade e a eficiência desse processo depende dos agentes polinizadores.

O fruto é classificado como uma baya indeiscente de forma ovoide ou globosa, com variabilidade na cor, tamanho e no peso. A coloração da casca quando maduro varia de acordo com a espécie. A parte externa é formada pelo pericarpo e a interna constitui a polpa. As sementes são de coloração pardo-escuro, revestidas pelo arilo, de onde é extraído o suco (MARTINS, 2006).

2.1.2. Importância econômica do maracujazeiro

O cultivo do maracujazeiro é uma atividade de grande expressão econômica no Brasil e pouco explorado nos demais países. De acordo com os últimos dados do IBGE (2022) foram produzidas 697.859 toneladas dos frutos em 45.602 hectares, tendo um rendimento médio de 15,303 t/ha da fruta. O maracujazeiro é cultivado em todas as regiões, principalmente, na região Nordeste, que é a maior produtora, responsável por cerca de 70% do total da produção do país (IBGE, 2022). Alagoas está em sétimo lugar na produção nacional da cultura, com cerca de 13.692 toneladas de frutos em 9.704 kg/ha (IBGE, 2022).

No Brasil, durante muitos anos, o maracujá era considerado apenas como uma fruta de pomar doméstico, sendo seu valor comercial descoberto no final da década de 60, quando cafeicultores, após um período de baixa comercialização do café, implantaram pomares de maracujá visando à possibilidade de rápido retorno financeiro oferecidos pela cultura. Assim, o maracujazeiro apresentou-se como uma opção economicamente viável, de grande importância econômica no Brasil, principalmente ao pequeno produtor da agricultura familiar, por ser uma atividade de impacto social, devido à alta rentabilidade do fruto (CAVICHIOLI; MELETTI; NARITA, 2018).

A partir da década de 90 ocorreu significativa ampliação da área cultivada do maracujá no País, com crescimento em torno de 75%, em apenas seis anos, o que tornou o maracujá uma cultura de expressão econômica (CRISÓSTOMO, 2009; MELETTI, 2011). Segundo Costa et al. (2005), além da importância econômica da cultura, possui um forte apelo social, onde cada hectare implantado, gera em torno de treze empregos, sendo 4 diretos e 9 indiretos. Deste modo, ajuda a evitar o êxodo rural e garantido ao pequeno produtor a fonte de renda familiar.

O maracujá é uma das poucas frutíferas que possuem todas as partes da planta comercializável. Além de consumido *in natura*, o fruto também é utilizado na fabricação de polpa, geleia e néctar. Suas sementes, folhas e raízes são utilizadas pela indústria farmacêutica como antiespasmódicos, anti-helmínticos e sedativos. As flores são utilizadas pelo mercado da ornamentação (FALEIRO et al., 2005).

2.1.3. Antracnose em maracujazeiro

Na produção da cultura do maracujazeiro alguns fatores apresentam-se como entrave, dentre eles estão os problemas fitossanitários causados pelos fitopatógenos vírus, bactérias e fungos (SÃO JOSÉ, 2015). No entanto, os fungos são considerados um dos principais agentes associados, principalmente, aqueles que causa a doença antracnose (DEAN et al., 2012).

A antracnose é uma doença disseminada em todas as regiões produtoras de maracujá no Brasil. Possui grande importância por atacar a parte aérea das plantas em qualquer idade, sendo de difícil controle quando as condições climáticas são favoráveis às epidemias (PIO-RIBEIRO & MARIANO, 1997). O gênero *Colletotrichum* é o principal agente causal desta doença, sendo as espécies *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. boninense*, *C. brasiliense*, *C. colombiense*, *C. karstii*, *C. torulosum*, *C. tropicale*, *C. fructicola*, *C. theobromicola*, *C. brevisporum*, *C. plurivorum*, *C. siamense* e *Colletotrichum constrictum* associadas à antracnose de *Passiflora* spp. em vários países ao redor do mundo, causando grandes prejuízos, sendo as espécies *C. plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. theobromicola*, *C. tropicale* e *C. fructicola* relatadas no Brasil (TOZZE et al., 2010; DAMM et al., 2012; SILVA et al., 2021; SILVA et al., 2022, ZHANG et al., 2022; WANG et al., 2021).

Os sintomas nas folhas apresentam-se na forma de manchas com aparência aquosa, que evoluem para necrose podendo ocorrer uma intensa queda de folhas, morte dos ponteiros e secamento parcial da planta. Nos frutos jovens, apresentam-se em forma de lesões circulares ou irregulares de coloração pardo-clara que aumentam de tamanho de acordo com a maturação do fruto e torna-se pardo-escuras, de aparência oleosa, deprimido e murcho que afetam a polpa, muitas vezes apresentando-se na forma de podridão mole, provocando queda dos frutos (SÃO JOSÉ et al., 2000; KIMATI et al., 2011).

A sobrevivência do patógeno se dá em restos de cultura e em tecidos afetados na própria planta, fazendo com que a doença seja mais frequente e severa em uma determinada área a partir do segundo ano de cultivo. A ocorrência da doença é favorecida por alta umidade, especialmente com chuvas frequentes, abundantes e temperatura média entre 26° e 28°C. Nestas condições, ocorre intenso desfolhamento, morte dos ponteiros e

podridão de frutos. A disseminação do patógeno ocorre através de sementes, respingos de chuva, insetos e implementos agrícolas (KIMATI et al., 2011).

3. MANEJO DA ANTRACNOSE EM MARACUJAZEIRO

O controle de doenças de plantas é um princípio fundamental para minimizar as perdas e garantir o máximo na produtividade (FRANCHINI et al., 2011). Pois sem controle, doenças de plantas podem ocasionar enormes prejuízos, de consequências sociais e econômica (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 2018).

Conceituações econômicas e biológicas estão intimamente relacionadas, pois a prevenção da doença leva à diminuição dos danos (reduções na quantidade e/ou qualidade da produção) e, eventualmente, das perdas (reduções do retorno financeiro por unidade de área cultivada) (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 2018).

3.1. Manejo químico

O manejo químico é recomendado para controle de doenças da parte aérea na cultura do maracujazeiro, dentre elas, destaca-se a antracnose, cujo agente causal é *C. gloeosporioides*. Os fungicidas recomendados para esse patossistema são: Difenconazol, Tebuconazol, Clorotalonil, Alquilenobis + Piraclostrobina), Tiofanato metílico, Piraclostrobina, Flutriafol, Mancozebe, Tiabendazol, Tebuconazol + Trifluclostrobina, Fluxapiroxade + Piraclostrobina, Azoxistrobina + Mancozebe, Tiabendazole, Hidróxido de cobre e Óxido cuproso (AGROFIT, 2023).

Embora exista um número considerável de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em maracujazeiro no mundo, apenas *C. gloeosporioides* s.s. foi utilizado nos estudos de controle da doença dos fungicidas liberados para uso na cultura.

3.1.1. Difenconazole

Fungicidas inibidores de biossíntese de Esteróis constituem o maior e mais importante grupo desenvolvido para controle de doenças fúngicas como as causadas por ascomicetos, basidiomicetos e fungos anamórficos. Este grupo possui grande vantagem em relação a dificuldade de patógenos adquirirem resistência sem afetar sua

adaptabilidade. Dentre os diversos compostos químicos, os triazóis são os mais importantes (KIMATI, 2011).

O difenoconazol (cis-trans-3-chloro-4-[4-methyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-2-ylphenyl 4-chlorophenyl ether) é um fungicida sistêmico de amplo espectro do grupo químico do triazol, amplamente utilizados no controle de doenças fúngicas em culturas agrícolas (DONG et al., 2013; QUANGLIANG et al., 2014). Esses fungicidas foram sintetizados como inibidores da desmetilação (DMI) direcionada ao esterol 14 α -desmetilase, uma importante enzima que regula a biossíntese do ergosterol, inibindo o crescimento fúngico, apresentando efeito protetivo e curativo (WANG et al., 2008; DONG et al., 2013; PRICE et al., 2015; HE et al., 2019).

O difenoconazol, com nome comercial Score® é indicado para o controle de fungos fitopatogênicos nas seguintes famílias botânicas: Anacardiaceae (*C. gloeosporioides*), Fabaceae (*C. dematium*), Gentiaminiaceae (*C. gloeosporioides*), Lauraceae (*C. gloeosporioides*), Rutaceae (*C. gloeosporioides*; *Elsinoe australis*), Salicaceae (*Melampsora medusae*), Solanaceae (*C. capsici*), Violaceae (*C. gloeosporioides*) (SCORE, 2022). Além da efetividade descrita pelo fabricante sobre *C. gloeosporioides* e *C. dematium*, há relatos na literatura da efetividade do difenoconazol sobre outras espécies do gênero, como *C. acutatum* (BAGGIO et al., 2018; GAMA et al., 2020), *C. fructicola*, *C. siamense*, *C. nymphaeae* e *C. fioriniae* – subgrupos 1 e 2 (CHEN et al., 2016), incluindo a espécie *C. gloeosporioides* que causa a antracnose em Passifloraceae (SCORE, 2023).

De acordo com Liang et al. (2020) o uso de difenoconazol em diferentes isolados de *C. fructicola* apresentou alta atividade inibitória sob o crescimento micelial e baixa germinação dos conídios. Shi et al. (2021) mostram em seu trabalho que as espécies *C. scovillei*, *C. truncatum*, *C. fructicola* e *C. aenigma* provenientes da doença antracnose em pimenta, são sensíveis ao uso deste fungicida, reduzindo significativamente o crescimento micelial em relação à testemunha.

3.1.2. Piraclostrobina

Os fungicidas que agem como inibidores da respiração constituem uma das principais classes. As estrobilurinas são derivadas de um metabólito secundário do fungo

Strobilus tenacellus. Tem amplo espectro e boa ação sobre basidiomicetos, ascomicetos, fungos anamórficos e alguns oomicetos (KIMATI, 2011).

A piraclostrobina (Methyl N-{2-[1-(4-chlorophenyl)-1H-pyrazol-3-yloxymethyl] phenyl} (N-methoxy) carbamate) é um fungicida sistêmico do grupo químico das estrobilurinas. Apresenta mecanismo de ação dos inibidores do complexo III: citocromo bc1 (ubiquinol oxidase) no sítio Qo, pertencente ao Grupo C3. Atua como inibidor do transporte de elétrons nas mitocôndrias das células dos fungos, inibindo a formação de ATP, essencial nos processos metabólicos dos fungos. Apresenta excelente ação protetiva, devido a sua atuação na inibição da germinação dos esporos, desenvolvimento e penetração dos tubos germinativos e proporciona maior atividade metabólica da planta, aumento da atividade da enzima nitrato redutase, resultando em melhor sanidade da planta. Sendo empregado no controle de *Colletotrichum* spp. de plantas das famílias: Bromeliaceae (*C. gloeosporioides*), Malvaceae (*C. gloeosporioides*), Anonaceae (*C. gloeosporioides*), Dioscoreaceae (*C. gloeosporioides*), Fabaceae (*C. gloeosporioides*; *C. capsici*), Sapindaceae (*C. gloeosporioides*), Actidiaceae (*C. gloeosporioides*), Euphorbiaceae (*C. gloeosporioides*), Rosaceae (*C. gloeosporioides*), Anacardiaceae (*C. gloeosporioides*), Caricaceae (*C. gloeosporioides*), Passifloraceae (*C. gloeosporioides*), Punicaceae (*C. gloeosporioides*) (COMET, 2023).

No estudo de Vasic et al. (2019) mostram que o crescimento micelial dos fungicidas inibidores externos de quinona (Qol) foram os que mais reduziram o crescimento micelial *in vitro* de 24 isolados de *Colletotrichum destructivum*.

3.1.3. Flutriafol

O flutriafol ((RS)-2,4'-difluoro-a-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl) benzhydryl alcohol) é um fungicida sistêmico do grupo químico do triazol. Apresenta mecanismo de ação de desmetilase na biossíntese de esterol, pertencente ao Grupo G1, indicado para o tratamento de doenças da parte aérea causadas por *Colletotrichum* ssp. nas famílias: Punicaceae (*C. gloeosporioides*), Solanaceae (*Colletotrichum* sp.; *C. gloeosporioides*) curcubitaceae (*C. gloeosporioides*; *C. gloeosporioides* f. sp. *cucurbitae*), Passifloraceae (*C. gloeosporioides*), Anacardiaceae (*Glomerella cingulata*), Apiaceae (*C. gloeosporioides*), Euphorbiaceae (*C. gloeosporioides*), Caricaceae (*C. gloeosporioides*), Fabaceae (*C. lini*; *C. truncatum*), Dioscoreaceae (*C. gloeosporioides*), Sapindaceae (*C.*

guaranicola), Malvaceae (*C. gloeosporioides*), Liliaceae (*C. gloeosporioides* f.sp. *cepaie*; *C. dematium* f.sp. *circinans*) e Lauraceae (*Colletotrichum* sp.) (FLUTRIAFOL, 2023).

Vasic et al. (2019) afirmam que os fungicidas inibidores de desmetilação (DMI), como por exemplo o flutriafol são eficazes no controle da espécie *C. destructivum*. Os resultados de Adriano et al. (2022) corroboram com as informações de Vasic et al. (2019) que afirmam a redução da taxa de crescimento micelial da colônia.

3.1.4. Azoxistrobina +Difenoconazole

A junção desses dois princípios ativos é sistêmicos e pertence aos grupos químicos estrobilurinas e triazol, respectivamente. A marca comercial amistar top tem atividade predominantemente preventiva, mas também com ação curativa e anti-esporulante, usado em pulverização para controle das doenças da parte aérea. Este fungicida composto apresenta dois diferentes modos de ação, o primeiro pertencente ao grupo C3 (Inibidores de extracelulares de Quinona - QoIs) e o segundo pertencente ao grupo dos G1 (inibidores de desmetilação - DMIs). O uso do fungicida é liberado para o controle da antracnose em diversas culturas como abacate (*C. gloeosporioides*), acerola (*C. gloeosporioides*) amora (*C. gloeosporioides*), anonáceas (*C. acutatum*), azeitona (*C. gloeosporioides*), cacau (*C. gloeosporioides*), caju (*C. gloeosporioides*), carambola (*C. gloeosporioides*), citros (*C. gloeosporioides*), cupuaçu (*C. gloeosporioides*), feijão (*C. lindemuthianum*), framboesa (*C. gloeosporioides*), guaraná (*C. gloeosporioides*), jiló (*C. gloeosporioides*), kiwi (*C. acutatum*), lichia (*C. gloeosporioides*), macadâmia (*C. gloeosporioides*), grão-de-bico (*C. capsici*), lentilha (*C. capsici*), mamão (*C. gloeosporioides*), mandioca (*C. gloeosporioides*), manga (*C. gloeosporioides*), mangaba (*C. gloeosporioides*), mirtilo (*C. gloeosporioides*), pimenta (*C. gloeosporioides*), pimentão (*C. gloeosporioides*), plantas ornamentais (*C. gloeosporioides*), pitanga (*C. gloeosporioides*), romã (*C. gloeosporioides*) e seriguela (*C. gloeosporioides*) (AMISTAR TOP, 2023).

Apesar de não haver recomendações do uso do Amistar top para o controle de antracnose no maracujazeiro, com o agente causal *Colletotrichum*, pode-se observar alguns estudos utilizando este fungicida para o controle da doença. Shanthini et al. (2021) afirmam que Amistar Top obteve um percentual de inibição do crescimento micelial de 94,43%, quando utilizaram a espécie *C. truncatum* proveniente da cultura da pimenta. Testado em condições de campo, Amistar top também mostrou grande eficiência sob o

controle da antracnose em capim preto com severidade mínima de 6%, enquanto o tratamento controle foi de 78,51% (KUMAR et al., 2020).

3.2. Manejo biológico

O controle biológico consiste na regulação natural do número de seres vivo por seus inimigos naturais. É um fenômeno que ocorre em todas as cadeias e estágios de vida na natureza. Dentre esses inimigos naturais há um número bastante diversificado, que vai desde mamíferos até microrganismos como vírus, bactérias e fungos (PARRA et al., 2002).

Quando o foco é o uso do controle biológico de doenças de plantas, de modo geral, observa-se uma íntima interação do patógeno, hospedeiro e o antagonista como componentes do controle (BETTIOL, 1991). Esse controle ocorre de um organismo por outro organismo, ou ainda o controle de um agente causal de uma doença de planta por um microrganismo antagonista (BETTIOL; SILVA; CASTRO et al., 2019).

Por definição, o controle biológico é um fenômeno dinâmico que sofre influência de fatores climáticos, disponibilidade de alimentos e competição, além da diversidade (VAN DEN BOSCH et al., 1982). A definição mais aceita é a que foi proposta por Cook & Baker (1983) onde definem o controle biológico como a “Redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, realizada por ou através de um ou mais organismos que não o homem”.

O crescimento expressivo do uso de fungicidas no Brasil mostra a importância do controle químico de fitopatógenos, além de estudos que levem a introdução de alternativas de manejo e o controle biológico destaca-se nesse sentido por não haver impacto ambiental (MORANDI et al., 2009).

Bettiol (2011) define os fungicidas biológicos como organismos vivos (fungos, bactérias, protozoários, straminipila e vírus), animais microscópicos (nematoides) e macrorganismos (predadores e parasitoides, insetos e ácaros) ou produtos naturais derivados desses organismos usados na proteção das plantas.

3.2.1. *Trichoderma* spp.

O *Trichoderma* pertence ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hipocreales, família Hipocreaceas. Este gênero é classificado como fungo anamorfo,

descrito como decompositor de madeira, onde produzia massas de esporos de coloração verde. Tem como espécie tipo *T. viride*. Após 70 anos foi comprovado que esta espécie era a forma assexual do ascomiceto *Hypocrea rufa* (MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019).

O gênero *Trichoderma* potencializou o cenário de controle biológico de doenças de plantas no Brasil tendo seu primeiro produto disponibilizado em 1987. A legislação tem sido fundamental para o crescimento no mercado (BETTIOL; SILVA; CASTRO et al., 2019). Atualmente, há 56 produtos fungicidas microbiológicos a base de *Trichoderma* ou compostos de *Trichoderma* spp + *Bacillus*. Dentre as espécies utilizadas estão *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma afroharzianum*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma amyloliquefaciens*, *Trichoderma koningiopsis* e *Trichoderma reesei*. (AGROFIT, 2023).

Uma das principais características deste gênero é a capacidade de parasitar fungos e controlar, principalmente, fungos habitantes do solo (MORANDI et al., 2009). Quitinases e glucanases são enzimas expressas na interação de espécies de *Trichoderma* com fungos fitopatogênicos que degradam a parede celular.

A produção de metabólitos secundários também apresenta grande potencial, pois possuem grande número de compostos contribuindo com diversidade metabólica do Reino Fungi (HERMOSA et al., 2014). Compostos como os peptaiboles, pequenos peptídeos não ribossômicos (NRP), poliquetídios (PK), terpenos e pironas como a 6-pentil-2H-piran-2-ona (6-PP) são os mais estudados e responsável pela cor amarela e cheiro de coco de muitos cultivos. A atividade antifúngica *in vitro* de muitos dos metabólitos secundários produzidos por *Trichoderma* são reconhecidos em gêneros como *Botrytis*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Stachybotrys*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Gaeumannomyces*, *Phytophthora* e *Pythium* (HERMOSA et al., 2014; MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019).

A espécie *Trichoderma harzianum* Rifai (cepa ESALQ-1306) é uma das mais estudadas e utilizadas para o controle. O fungicida microbiológico Trichodermil SC 1306® (*T. harzianum*) é um microparasita necrotróficos de ocorrência natural em solos, eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos. O conhecimento sobre o modo de ação do agente de biocontrole é essencial para o sucesso (BULA – TRICHODERMIL SC 1306, 2023).

O *Trichoderma* pode atuar por diferentes mecanismos, como é o caso do produto comercial Trichodermil, que tem ação antagônica, parasita e antibiose. O antagonismo age inibindo a ocupação do espaço por outros microrganismos fitopatógenos que também se desenvolvem em determinado ambiente. Também agem de forma direta com o microparasitismo inviabilizando as estruturas vegetativas, reprodutivas e de resistência de fungos fitopatogênicos. Além disso, ocorre a interação entre os organismos pela antibiose, na qual os metabólitos produzidos pelo fungo (protease, lipase, glucanase e quitinases) promovem a degradação da parede celular de fungos (BULA – TRICHODERMIL SC 1306, 2023).

Costa et al. (2021) mostram em seu trabalho um grande potencial de *T. piluliferum* como biocontrole em banana na pós-colheita, onde os metabólitos reduziram os danos causados por *C. musae* quando comparadas com o fungicida imazali, ficando com aspecto de hifas inchadas e vacuolizadas.

A efetividade de diferentes espécies de *Trichoderma* foi avaliada no controle de *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Penicillium digitatum* e obteve uma redução em torno de 80% nas infecções de laranjas quando os agentes causais eram resistentes ao fungicida pirimetanil (FERREIRA et al., 2020).

REFERÊNCIAS

ADRIANO, B.; ROMÃO, D.; UACIQUETE, A.; MONDJANA, A.M.; BILA, J. *In vitro* assessment of copper oxychloride and flutriafol for the control of cashew leaf and fruit blight fungi. **Agrarian and Biological Sciences**, v. 11, n. 12, 2022.

AGROFIT. 2023. Disponível em:
https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso:
maio/2023

AMISTAR TOP. **Fungicida amistar top**. Disponível em:
https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtney466/files/media/document/2023/03/08/BULA_AMISTAR_TOP_FEV_23.pdf. Acesso: maio/2023

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; FILHO, A. B. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018, p.561.

ARAÚJO, F. P. **Caracterização da variabilidade morfoagronômica de maracujazeiro (*Passiflora cincinnata* Mast.) no semi-árido brasileiro**. 2009. 94f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Botocatu, 2009.

BAE, Y. S.; KNUDSEN, G. R. Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. **Biological Control**, v. 32, p. 236–242, 2005.

BAGGIO, J.S.; WANG, N.Y.; PERES, N.A.P.; AMORIM, L. Baseline sensitivity of *Colletotrichum acutatum* isolates from brazilian strawberry fields to azoxystrobin, difenoconazole, and thiophanate-methyl. **Tropical Plant Pathology**, v.43, p.533-542, 2018.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Controle de doenças. *In*: AMORIM, L.; RESENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. (5. ed.). São Paulo: Agronômica Ceres, 2018, 561p.

BETTIOL, W. Biopesticide use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**, v. 22, n. 6, p. 280-284, 2011.

BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. *In*: KRETZCHMAR, A.A.; COSTA, A.S.; AUER, C.G. et al. **Controle biológico de doenças de plantas**. (ed) Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991, 388p.

- BETTIOL, W.; SILVA, J.C.; CASTRO, M.L.M.P. Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. *Trichoderma: uso na agricultura*. (ed.). Brasília: Embrapa, 2019.
- BRUCKNER, C. H.; CASALI, V. W. D.; MORAES, C. F. de; REGAZZI, A. J.; SILVA, E. A. M. Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Acta Horticulturae**, v. 370, p. 45-57, 1995.
- BRUCKNER, C. H.; SUASSUNA, T.M.F.; RÊGO, M.M.; NUNES, E.S. Autoincompatibilidade do maracujá - implicações no melhoramento genético. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá germoplasma e melhoramento genético**. (ed.). Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005, p.315-338.
- BULA TRICHODERMIL SC 1306. Disponível em: https://www.koppert.com.br/content/brasil/Documents/Trichodermil/F1342060176_Trichodermil_SC_bula_-_23.08.2021_AGROFIT_-_Cat_5__2__01.pdf. Acesso: 10/2023.
- CANNON, P. F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S. *Colletotrichum*-current status and future directions. **Studies Mycology**, v.73, p. 181–213, 2012.
- CERVI, A.C. Passifloraceae do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., Subgênero *Passiflora*. **Fontqueria**, v.5, p. 1-92, 1997.
- CHEN, S.N.; LUO, C.X.; HU, M.J.; SCHNSBRL, G. Sensitivity of *Colletotrichum* Species, Including *C. fioriniae* and *C. nymphaeae*, from Peach to Demethylation Inhibitor Fungicides. **Plant disease**, v.108, n.12, p. 2434-2441, 2016.
- COHN, F. Untersuchungen Über Bakterien. **Beitrag zur Biologie Pflanz**, v.1, p.127-1224, 1872.
- COMET. **Fungicida piraclostrobina**. Disponível em: https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2023-05/comet.pdf. Acesso: 05/2023
- COOK, R.J.; BAKER, K.F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St, Paul: The American phytopathological society, 1983, 539 p.
- COSTA, A. F. S. et al. Plantio, formação e manejo da cultura do maracujá. In: COSTA, A. de F. S.; COSTA, A. N. **Tecnologias para a produção de maracujá**. (Ed.). Vitória: INCAPER, 2005, p. 23-53.

COSTA, A.C.; MIRANDA, R.F.; COSTA, F.A.; ULHOA, C.J. Potential of *Trichoderma piluliferum* as a biocontrol agent of *Colletotrichum musae* in banana fruits. **Biotechnology**, v. 34, 2021

CRISÓSTOMO, L. A; NAUMOV, A. Adubando para alta produtividade e qualidade: fruteiras tropicais do Brasil. **Embrapa Agroindústria Tropical**, p. 238, 2009.

CROCHEMORE, M.L.; MOLINARI, H.B.; STENZEL, N.M.C. Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* spp.) **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, p.5-10, 2003.

DAMM, U.; CANNON, P.F.; WOUDEBERG, J.H.C.; CROUS, P.W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p.37-113, 2012.

DAMM, U.; CANNON, P.F.; WOUDEBERG, J.H.C.; JOHNSTON, P.R.; WEIR, B.S.; TAN, Y.P.; SHIVAS, JOHNSTON, P.R.; WEIR, B.S.; TAN, Y.P.; SHIVAS, R.G.; CROUS, P.W. et al. The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, n.1, p.1-36, 2012.

DEAN, R.; VAN KAN, J. A. L.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E.; DI PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G. D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012.

DONG, F.; LI, J.; CHANKVETADZE, B.; CHENG, Y.; XU, J.; LIU, X.; LI, Y.; CHEN, X.; BERTUCCI, C.; TADESCO, D.; ZANASI, R.; ZHENG, Y. Chiral triazole fungicide difenoconazole: Absolute stereochemistry, stereoselective bioactivity, aquatic toxicity, and environmental behavior in vegetables and soil. **Environmental Science & Technology**, v.47, p. 3386-3394, 2013.

DOYLE, V. P.; OUDEMANS, P. V.; REHNER, S. A.; LITT, A. Habitat and host indicate lineage identity in *Colletotrichum gloeosporioides*. I. from wild and agricultural landscape in North America. **PLoS ONE**, v. 8, n.5, p.1–21, 2013.

EMBRAPA. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/1038/maracuja-azedo-brs-sol-do-cerrado-brs-sc1#:~:text=Maracuj%C3%A1%20azedo%20BRS%20Sol%20do%20Cerrado%20%28BRS%20SC1%29,apresentando%20rendimento%20de%20polpa%20em%20torno%20de%2038%25..> Acesso em: 10/2023

FALEIRO, F. G. et al. **Maracujá germoplasma e melhoramento genético**. (ed). Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005, p. 315-338.

FERREIRA, F.V.; HERRMANN-ANDRADE, A.M.; CALABRESA, C.D.; BELLO, F.; VÁZQUEZ, D.; MUSUMECI, M.A. Effectiveness of *Trichoderma* strains isolated from the rhizosphere of citrus tree to control *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Penicillium digitatum* A21 resistant to pyrimethanil in post-harvest oranges (*Citrus sinensis* L. (Osbeck)). **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, n.3, 2020.

FLUTRIAFOL. **Fungicida flutriafol**. Disponível em: https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/tenaz250sc0920.pdf. Acesso em: 05/2023.

FRANCHINI, J.C.; COSTA, J.M.; DEBIASI, H. Controle de doenças de plantas é um princípio fundamental para minimizar as perdas e garantir o máximo na produtividade. **Informações Agronômicas**, n. 134, 2011.

GALINDO, E.; SERRANO-CARREÓN, L.; GUTIÉRREZ, C.R.; BALDERAS-RUIZ, K.A.; MUÑOZ-CELAYA, A.L.; MEZO-VILLALOBOS, M.; ARROYO-COLÍN, J. Desarrollo histórico e os retos tecnológicos e legais para comercializar Fungifree AB®, o primer biofungicida 100% mexicano. **TIP Revista Especializada em Ciências Químico-Biológicas**, v.18, p.52-60, 2015.

GAMA, A.B.; BAGGIO, J.S.; REBELLO, C.S.; LOURENÇO, S.A.; GASPAROTO, M.C.G.; SILVA JÚNIOR, G.J.; PERES, N.A.; AMORIM, E. Sensitivity of *Colletotrichum acutatum* isolates from *Citrus* to carbendazim, difenoconazole, tebuconazole, and trifloxystrobin. **Plant Disease**, v.104, n.6, p. 1621-1628, 2020.

HE, M.; WANG, Y.O.; WU, E.J.; SHEN, L.L.; YANG, L.N.; WANG, T.; SHANG, L.P.; ZHU, W.; ZHAN, J. Constraining evolution of *Alternaria alternata* resistance to a demethylation inhibitor (DMI) fungicide difenoconazol. **Frontiers in Microbiology**, v.10, p.1-12, 2019.

HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; RUBIO, M. B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: GUPTA, V. K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. **Biotechnology and biology of Trichoderma**. (Ed.). Amsterdam: Elsevier, 2014, p. 125-137.

IBGE (2022). Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/maracuja/al>. Acesso em: 10/2023

JAYAWARDENA, R. S.; BHUNJUN, C. S.; HYDE, K. D.; GENTEKAKI, E. ITTHAYAKORN, P. *Colletotrichum*: lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. **Mycosphere**, v. 12, p. 519–669, 2021.

JUNQUEIRA, N. T. V.; PEIXOTO, J. R.; BRANCHER, A.; JUNQUEIRA, K. P.; FIALHO, J. F. Melhoramento genético do maracujá-doce. *In*: MANICA, I.; JOSÉ, A. R. S.; BRUCKNER, C. H.; HOFFMANN, M. **Maracujá-doce: Tecnologia de produção, pós-colheita e Mercado.** (Eds.). Porto Alegre: Cinco continentes, 2005, p. 39–46.

KEYNAN, A.; SANDLER, N. Spore research in historical perspective, 1983.

KIMATI, H. Controle químico. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos.** (ed.). São Paulo: Agronômica ceres, 2011.

KUDO, A. S. **Reação de genótipos de maracujazeiro azedo a *Septoria passiflorae* e a *Cladosporium herbarum*.** 2004. 97 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 1995.

KUMAR, A.; RAWAL, R.; ROY, N.; AHAMAD, A.; KUMAR, H. Evaluation of fungicides for management of anthracnose disease of black gram (*Vigna mungo* l.) in growing areas of district Jhansi of Bundelkhand region. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 12, n. 2, p. 110-114, 2020

LEITÃO FILHO, H. F.; ARANHA, C. Botânica do maracujazeiro. *In*: **SIMPÓSIO DA CULTURA DO MARACUJÁ.** Campinas: SBF, 1974, 13p.

LIANG, S.; YUXUAN, M.; MIN, F.; NI, H.; GUOPING, W. Sensitivity of difenoconazole to *Colletotrichum fructicola* at major pear cultivation areas in South China. **Chinese journal of pesticide science**, v. 22, n. 1, p. 54-59, 2020.

LIMA, N. B.; LIMA, W. G.; TOVAR-PEDRAZA, J. M.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S. Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 141, n. 4, p. 679-688, 2015.

LIU, F.; MA, Z. Y.; HOU, L. W.; DIAO, Y. Z.; WU, W. P.; DAMM, U.; SONG, S.; CAI, L. Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. **Studies in Mycology**, v. 101, p. 1–56, 2022.

LOPES, S.C. Citogenética do maracujá, *Passiflora* spp. *In*: SÃO JOSÉ, A.R.; FERREIRA, F.R.; VAZ, R.L. **A cultura do maracujá no Brasil.** (Eds.). Jaboticabal: FUNEP, 1991, p. 201-209.

MARTINS, I. **Reação de progênies de maracujazeiro-amarelo ao *Colletotrichum gloeosporioides* e biocontrole da antracnose com *Trichoderma* spp.** 2006. 137 p. Dissertação (Mestrado na Faculdade De Agronomia e Medicina Veterinária) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, p.083-091,2011.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. *In*: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá, germoplasma e melhoramento genético**. (Ed.). Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005, p. 55-78.

MELO, A.L.; VIEIRA, R.D.; OLIVEIRA, J.C. Efeito do tipo de armazenamento e de embalagem sobre a germinação e vigor de sementes de maracujá giberti (*Passiflora gibertii* N. E. Brown). **Revista brasileira de fruticultura**, v. 22, n. 2, p. 257-259, 2000.

MELO, N.J.A.; NEGREIRO, A.M.P.; MEDEIROS, H.L.S.; SALES JÚNIOR, R. Evaluation of *Fusarium* wilt disease in passion fruit species inoculated with *Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*. **Journal of Phytopathology**, v. 168, n.2, 2020.

MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A. Histórico de *passiflora* L. com enfoque no subgênero decaloba (dc.) Rchb. (passifloraceae *sensu stricto*). **Diversidade e Geoponto**, v.2, n.1, p.36-45, 2018.

MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. *In*: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. **Trichoderma: uso na agricultura**. (ed.). Brasília: Embrapa, 2019.

MORANDI, M.A.B.; JÚNIOR, T.J.P.; BETTIOL, W.; TEIXEIRA, H. Controle biológico de fungos fitopatogênicos. *In*: VENZON, M.; JÚNIOR, T.J.P.; BETTIOL, W.; TEIXEIRA, H. **Controle biológico de pragas, doenças e plantas invasoras**. (ed.). Epamig, 2009, 124p.

OLIVEIRA, J.S.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V. Diversidade genética inter e intraespecífica de acessos do banco de Germoplasma de *Passiflora* 'Flor da Paixão'. *In*: FALEIRO, F.G.; OLIVEIRA, J.S.; WALTER, B.M.T. **Banco de germoplasma de Passiflora L. 'Flor da Paixão': Caracterização fenotípica, diversidade genética, fotodocumentação e herborização**. Brasília: ProImpress, 2020.

OLIVEIRA, M. Z. A.; PRATES JÚNIOR, P.; BARBOSA, C.J.; ASSMAR, C. *C.Lasiodiplodia theobromae*: um problema para a agricultura baiana. **Revista Bahia Agrícola**, v. 9, n.2, 2013.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M. Controle biológico: Terminologia. *In*: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M. **Controle biológico no Brasil: Predadores e parasitóides**. (ed.). São Paulo: Manole, 2002, 635p.

PASCHOLATI, S.F. Fisiologia do parasitismo: como os patógenos atacam as plantas. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. (ed). Agronomica ceres, 2011, p.545-591.

PIO-RIBEIRO, G.; MARIANO, R. L. R. Doenças do maracujazeiro. *In*: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERAGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia**. (3 ed). São Paulo: Agronômica Ceres, 1997.

PRICE, C.L.; JOSIE, P.; WARRILOW, A.G.S.; KELLY, D.; KELLY, S. Azole fungicides – Understanding resistance mechanisms in agricultural fungal pathogens. **Pest Management Science**, v.71, n.8, p.1054-1058, 2015.

QUANGLIANG, L.; JUN, C.; YUBIN, X.; JIANLONG, W. Crystal structure of trans-3-chloro-4-[4-methyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-2-yl]phenyl-4-chlorophenyl ether, C₁₉H₁₇C₁₂N₃O₃. *Zeitschrift für Kristallographie - New Crystal Structures*, v.229, n.3, p.233-234, 2014.

ROSADO, A.W.C.; CUSTÓDIO, F.A.; PINHO, D.B.; FERREIRA, A.P.S.; PEREIRA, O.L. *Cladosporium* species associated with disease symptoms on *Passiflora edulis* and other crops in Brazil, with descriptions of two new species. **Phytotaxa**, v. 409, n. 5, p.15, 2019.

RUGGIERO, C. Situação do maracujazeiro no Brasil. **Informe Agropecuário**, v. 21, p. 5-9, 2000.

SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; PIRES, M. de M.; ANGEL, D. N.; SOUZA, I. V. B.; BOMFIM, M. P. **Maracujá – Práticas de Cultivo e Comercialização**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 2000, 79p.

SÃO JOSÉ, A.R. **Controle fitossanitário do maracujá**. 2015. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/control-fitossanitario-do-maracuja/>

SCORE. **Fungicida score**. 2022. Disponível em: https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtny466/files/media/document/2022/05/06/score_1.pdf. Acesso: 05/2023

SEBRAE. 2016. **O cultivo e o mercado do maracujá**. Disponível em: <https://sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-do-maracuja,108da5d3902e2410VgnVCM100000b272010aRCRD>. Acesso em:11/2023

SHI, N.N.; RUAN, H.C.; JIE, Y.L.; CHEN, F.R. Characterization, fungicide sensitivity and efficacy of *Colletotrichum* spp. from chili in Fujian, China. **Crop Protection**, v. 143, 2021

SILVA, J.L.; LOPES, L.E.M.; SILVA-CABRAL, J.R.; COSTA, J.F.O.; LIMA, G.S.A.; ASSUNÇÃO, I.P. *Colletotrichum* species associated with anthracnose in passion fruit in Brazil. **Diversitas Journal**, v. 7, n. 3, p. 1205-1224, 2022.

SILVA, J.L.; SILVA, W.F.; LOPES, L.E.M.; SILVA, M.J.S.; SILVA-CABRAL, J.R.A.; COSTA, J.F.O.; LIMA, G.S.A.; ASSUNÇÃO, I.P. First Report of *Colletotrichum tropicale* Causing Anthracnose on *Passiflora edulis* in Brazil. **Plant disease**, v.105, n.11, p. 3761, 2021.

TALHINHAS, P.; BARONCELLI, R. *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, hostrange and conservation status. **Fungal Diversity**, v. 110, p. 109–198, 2021.

TOZZE JÚNIOR, H. J.; FISCHER, I. H.; CÂMARA, B. M. P. S.; MASSOLA JÚNIOR, N. S. First report of *Colletotrichum boninense* infecting yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) in Brazil. **Plant Disease Notes**, v. 5, p. 70–72, 2010.

VAN DER BOSCH, R.; MESSENGER, P.S.; GUTIERREZ, A.P. **An introduction to biological control**. (ed). New York: Plenum press, 1982, 247p.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. Massachusetts: MIT Press, 1996, 224p.

VASIC, T.; VOJINOVIC, U.; ZUJOVIC, S., VESNA KRNJAJA, V.; ZIVKOVIC, S.; MARKOVICA, J.; STEVI, M. Em vitrotoxicidade de fungicidas com diferentes modos de ação para alfafafungo antracnose, *Colletotrichum destructivum*. **Revista de ciência ambiental e saúde**, v. 54, n. 12, p. 964–971, 2019.

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C. **Principais doenças do maracujazeiro na região Nordeste e seu controle**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 11 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 86).

WANG, W.; DE SILVA, D.D.; MOSLEMI, A.; EDWARDS, J.; ADES, P.K.; CROUS, P.W.; TAYLOR, P.W.J. *Colletotrichum* Species Causing Anthracnose of Citrus in Australia. **Journal of Fungi**, v. 7, p. 47, 2021.

WANG, Z.; YANG, T.; QUIN, D.M.; GONG, Y.; JI, Y. Determination and dynamics of difenoconazole residues in Chinese cabbage and soil. **Chinese Chemical Letters**, v.19, p.969-972, 2008.

ZERAIK, M.L.; PEREIR, C.A.M.; ZUIN, V.G.; YARIWAKE, J.H. Maracujá: um alimento funcional?. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.20, n.3, p. 459-471, 2010.

ZHANG, L.; HUANG, X.; ZHANG, Y.; HU, H.; REN, E. First Report of Anthracnose on *Passiflora edulis* Caused by *Colletotrichum siamense* in Guangdong Province in China. **Plant disease**, v.108, n.8, p. 2258, 2022.

Capítulo I

EFEITO *in vitro* E *in vivo* DE FUNGICIDAS SOBRE AS ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À ANTRACNOSE DO MARACUJAZEIRO

RESUMO

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá (*Passiflora* spp.), sendo o Nordeste responsável por 70% da produtividade nacional. Doenças fúngicas como a antracnose, causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, é um dos principais fatores que **reduzem a produção e interfere na qualidade dos frutos**. Diante disso, os objetivos deste estudo foram avaliar *in vitro* os efeitos dos fungicidas difenoconazole, piraclostrobina, flutriafol e azoxistrobina + difenoconazole e em mudas de maracujazeiro o efeito de piraclostrobina sobre as espécies fúngicas de *Colletotrichum plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. theobromicola*, *C. tropicale* e *C. fructicola*. Na avaliação *in vitro* da sensibilidade de *Colletotrichum* spp. aos fungicidas, um disco (5 mm) de meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA – Kasvi) sintético, contendo as estruturas fúngicas foi adicionado ao meio de cultura BDA suplementado com os fungicidas nas concentrações estabelecidas para cada produto. As placas foram incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ no escuro, mensuradas diariamente, no período de sete dias. Para verificar a diferença entre os tratamentos foram estimados o índice de crescimento micelial (IVCM) e a porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC). Na avaliação *in vivo* foram utilizadas mudas assintomáticas da variedade maracujá do cerrado. Foi utilizado o fungicida piraclostrobina na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Para o tratamento preventivo foi pulverizado o fungicida e após 48 horas as mudas foram inoculadas discos contendo as estruturas das espécies de *Colletotrichum*. Para o tratamento curativo, as mudas foram inoculadas primeiramente com o patógeno e após quatro dias foi pulverizado o fungicida. A testemunha consistiu da inoculação apenas de *Colletotrichum* spp. Ambos os tratamentos foram avaliados ao décimo dia medindo o diâmetro das lesões. Nos testes *in vitro*, as dosagens recomendadas pelos fabricantes dos fungicidas flutriafol, piraclostrobina e amistar top foram as mais eficientes, no entanto, para o fungicida difenoconazole o melhor resultado foi obtido quando utilizou a maior dosagem. O tratamento preventivo obteve as menores médias de tamanho de lesões para todas as espécies, exceto *C. plurivorum*, que foi menos agressivo no tratamento curativo. De forma geral, o fungicida piraclostrobina foi o mais eficiente tanto *in vitro* como *in vivo* para *Colletotrichum* spp.

Palavras-chave: Fungitóxico; *Passiflora*; Sensibilidade.

1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro (*Passiflora*) é uma planta trepadeira da família Passifloraceae com grande expressão econômica principalmente no Brasil, que é responsável pela maior produção mundial com 697.859 toneladas em uma área de 45.602 hectares, distribuídos em 34.674 estabelecimentos, com rendimento médio de 15.303 kg/ha (IBGE, 2022).

Dentre os diversos problemas fitossanitários que acometem a cultura do maracujazeiro, a antracnose causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, é uma das principais doenças encontradas em todas as regiões produtora de maracujá. (SÃO JOSÉ, 2015).

Os sintomas de antracnose nas folhas apresentam-se na forma de manchas com aspecto aquoso, que evoluem em tamanho, adquirindo uma cor parda com bordos pardos-escuros. Com a coalescência de lesões, formam-se grandes áreas de tecidos necrosados, apresentando rachaduras e intensa queda de folhas, reduzindo a taxa fotossintética da planta. Nos frutos apresentam lesões de coloração pardo escura, borda circular ou irregular, centro deprimido e aspecto oleoso e sobre condições favoráveis, ou seja, alta umidade e temperaturas entre 25 – 27°C pode ocorrer a morte dos ponteiros, seca parcial ou total da planta, queda intensa das folhas e frutos imaturo e podridão de pós colheita nos frutos maduros, prejudicando a qualidade da polpa do fruto. (AMORIM; REZENDE, 2016).

O manejo sanitário tornou-se de suma importância quando a finalidade é o aumento da produção do maracujazeiro (CAVICHOLI, 2016). O controle químico atualmente é o mais utilizado para reduzir os danos causados pelos fitopatógenos na produção do maracujazeiro (AMORIM et al., 2018). No entanto, a indicação dos fungicidas liberados para o controle da antracnose do maracujazeiro é para a espécie *C. gloeosporioides* (AGROFIT, 2023).

Lima et al. (2015) relatam que as espécies de *Colletotrichum* apresentam comportamento diferenciado frente aos diferentes fungicidas e que este dado pode direcionar a escolha dos ingredientes ativos mais adequados no controle da doença. Portanto, estudos comparativos do efeito dos diferentes fungicidas sobre as diferentes espécies que ocorrem em maracujazeiro precisam ser desenvolvidos com o objetivo de evitar a resistência dos patógenos pelo uso indiscriminado desses produtos.

Diante da escassez de estudos relacionados ao uso dessas moléculas para o controle da antracnose no maracujazeiro, causada por diferentes espécies de *Colletotrichum*, o objetivo deste estudo é avaliar *in vitro* os efeitos dos fungicidas difenoconazole, piraclostrobina, flutriafol e azoxistrobina + difenoconazole sobre *Colletotrichum* spp., bem como modo de ação de piraclostrobina em mudas de maracujazeiro inoculadas com *Colletotrichum* spp.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento, obtenção das espécies de *Colletotrichum*.

O trabalho foi realizado no *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas - Rio Largo/AL. Os experimentos foram conduzidos na clínica fitossanitária e em casa-de-vegetação.

Isolados representativos de cinco espécies de *Colletotrichum*, provenientes de plantas de maracujazeiro exibindo sintomas de antracnose, foram obtidos da Coleção de Fitopatógenos da Universidade Federal de Alagoas - COUFAL. Os isolados foram caracterizados por Inferência Bayseana baseados em análises multi-locus utilizando os genes gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (*GAPDH*), quitina sintetase (*CHS-1*), β -tubulina (*TUB2*) e região do espaço interno transcrito (ITS) por Silva et al., 2022 e suas sequências parciais foram depositadas no GenBank, com os códigos descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Isolados de *Colletotrichum* provenientes de maracujazeiro.

ESPÉCIES	CÓDIGOS	Números de acesso do GenBank			
		<i>GAPDH</i>	<i>ITS</i>	<i>TUB2</i>	<i>CHS-1</i>
<i>C. brevisporum</i>	*COUFAL0271	MT299329	MT334686	MT310545	MT314425
<i>C. plurivorum</i>	COUFAL0275	MT299333	MT334689	MT310548	-
<i>C. fruticola</i>	COUFAL0279	MT299337	MT334692	MT310551	-
<i>C. theobromicola</i>	COUFAL0280	MT299338	MT334693	MT310552	-
<i>C. tropicale</i>	COUFAL0282	MT299340	MT334695	MT310554	-

* COUFAL: Coleção de fitopatógenos da Universidade Federal de Alagoas.

Para recuperar os isolados, fitas de papel filtro com o crescimento das espécies de *Colletotrichum* foram colocadas em placas de petri contendo meio BDA.

2.2. Teste de patogenicidade das espécies de *Colletotrichum*.

Todos os isolados recuperados foram testados quanto à patogenicidade em *Passiflora*. A inoculação foi realizada em folhas assintomáticas obtidas de maracujazeiro lavadas e secas em papel toalha. O inóculo consistiu de discos contendo as estruturas das

espécies de *Colletotrichum* com 7 dias. Em seguida, o inóculo foi depositado sobre a superfície adaxial das folhas feridas com auxílio de uma agulha estéril, com três repetições. A testemunha consistiu apenas de discos de meio de cultura BDA. As folhas foram acondicionadas em gerbox com papel filtro esterilizado umedecido com ADE e incubadas em temperatura ambiente. Aos 7 dias após a inoculação foram observados os sintomas das lesões nas folhas.

2.3. Efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* spp.

A sensibilidade das espécies de *Colletotrichum* foi avaliada observando o crescimento micelial em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) sintético enriquecido com fungicidas, utilizando as formulações comerciais (Tabela 2).

Tabela 2: Fungicidas utilizados nos testes de sensibilidade.

Ingrediente Ativo	Nome comercial	Grupo químico	Tipo	CIA1
Difenoconazole	Score	Triazol	Sistêmico	250g/L ⁻¹
Piraclostrobina	Comet	Estrobilurinas	Sistêmico	250g/L ⁻¹
Flutriafol	Tenaz	Triazol	Sistêmico	500g/L ⁻¹
Azoxistrobina		Estrobilurina		200 g/L ⁻¹
+	Amistar Top®	+	Sistêmico	+
Difenoconazol		Triazol		125 g/L ⁻¹

¹Concentração do ingrediente ativo

Os fungicidas foram dissolvidos diretamente em água destilada esterilizada e, em seguida, foi completado seu volume até 100 mL, para obtenção de uma solução estoque de 10.000 mg L⁻¹ do ingrediente ativo. A partir da solução estoque, foi feita uma diluição em série, de tal maneira que cada mL dessa solução, quando adicionada à 99 mL de meio BDA fundente, produziu a concentração desejada.

O meio de cultura com o fungicida foi agitado para homogeneização dos mesmos e, posteriormente, foram vertidos em placas de Petri. Discos de 5mm de diâmetro contendo as estruturas fúngicas, com 7 dias de crescimento, das cinco espécies de *Colletotrichum* foram colocados no centro de placas de Petri, contendo meio BDA sintético, suplementado com os fungicidas. As testemunhas consistiram da inoculação de discos miceliais diretamente no meio BDA sem a adição de fungicidas. As placas foram mantidas em câmara B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*), à temperatura de 25°C ± 1 no escuro.

As concentrações dos fungicidas foram estabelecidas utilizando uma dosagem maior e uma menor, referente aquela recomendada pelo fabricante para o controle da antracnose. Logo, para o fungicida difenoconazole foram estabelecidas as seguintes concentrações: 25, 50 e 75 μg de i.a. ml^{-1} . Para Piraclostrobina foram: 75, 100 e 125 μg de i.a. ml^{-1} . O Flutriafol as concentrações foram: 200, 375 e 550 μg de i.a. ml^{-1} e Amistar Top: 100, 163 e 226 μg de i.a. ml^{-1} .

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado composto por 5 espécies de *Colletotrichum* x 4 fungicidas x 3 concentrações, sendo cinco repetições por tratamento. As avaliações foram realizadas através da mensuração do crescimento micelial, perpendicularmente, durante 7 dias. Com o resultado das medidas, foi calculado o índice de velocidade crescimento micelial (IVCM) e a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), de acordo com as fórmulas descritas a seguir:

$$IVCM = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \frac{C_n}{N_n}$$

Onde: C_1 , C_2 e C_n correspondem ao crescimento micelial na primeira, segunda e última avaliação; e N_1 , N_2 e N_n correspondem ao número de dias após a inoculação.

$$PIC = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento}) \times 100}{\text{Crescimento da testemunha}}$$

2.4. Efeito de fungicidas sobre *Colletotrichum* spp. em mudas de maracujazeiro

Para o experimento *in vivo*, mudas de maracujazeiro da variedade Sol do Cerrado foram adquiridas em viveiro comercial no município de Arapiraca – AL. As mudas foram levadas para o CECA, onde foram transplantadas para sacos de polietileno (10x20 cm), contendo substrato. As mudas foram regadas diariamente e aos 60 dias foi feito o desbaste deixando apenas três folhas por muda (Figura 1).



Figura 1: Variedade sol do Cerrado. A) Mudas com 30 dias; B) Transplântio das mudas; C) Mudas com 60 dias.

As mudas assintomáticas com 60 dias foram utilizadas para testar a capacidade do fungicida em controlar a doença, no efeito preventivo e curativo. Para esse teste foi preparada a diluição do fungicida piraclostrobina na concentração de $100 \mu\text{gL}^{-1}$. A escolha desse fungicida foi determinada por apresentar os melhores resultados no teste *in vitro* do controle de *Colletotrichum* spp.

Para determinar o efeito preventivo foram realizadas pulverizações do fungicida nas folhas das mudas de maracujazeiro e, após 48 horas foram inoculadas com disco de micélio provenientes das colônias de espécies de *Colletotrichum*, cultivadas durante 7 dias em meio de cultura BDA. No efeito curativo foi realizada a inoculação dos discos de BDA contendo as estruturas do patógeno em folhas de maracujazeiro e, após o surgimento das lesões foi pulverizado o fungicida. A testemunha consistiu na inoculação de discos contendo as estruturas do patógeno no mesmo período da aplicação do fungicida. As inoculações foram realizadas em três folhas, feridas com auxílio de uma agulha estéril, contendo três repetições.

As mudas foram pulverizadas com auxílio de um pulverizador até o escoamento total do fungicida, com aproximadamente 10 mL/Planta. Posteriormente, foram acondicionadas em uma estrutura envolta por plástico, com umidificadores, ligados a cada 12 horas, para manter a umidade relativa do ar elevada e, assim, favorecer o desenvolvimento do patógeno. O experimento foi mantido por um período de 10 dias (Figura 2).

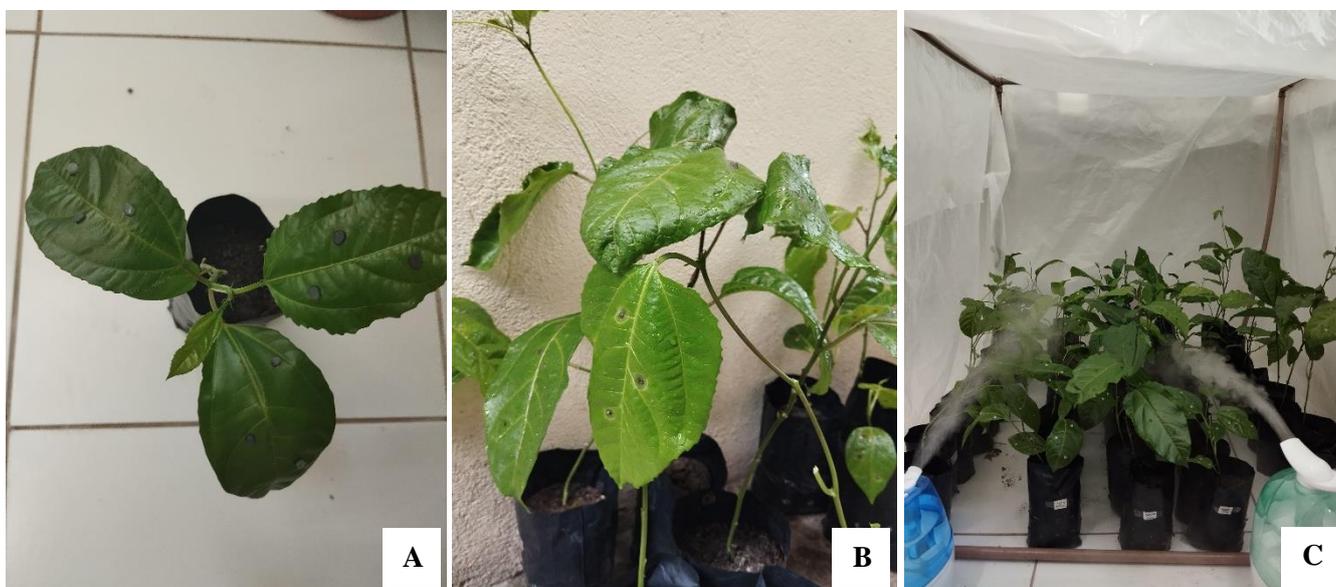


Figura 2: Experimento *in vivo* - **A)** Mudas inoculadas; **B)** Escoamento superficial do fungicida pulverizado (Curativo); **C)** Mudas em câmara úmida.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado composto por 5 espécies de *Colletotrichum* x 1 fungicida x 1 concentração, sendo três folhas por planta e três ferimentos por folha. As avaliações foram realizadas por meio da mensuração do crescimento micelial, perpendicularmente, ao décimo dia. Foi observado a severidade da doença (SEV) e o período de incubação (PI). O patógeno foi reisolado para comprovar a patogenicidade das espécies conforme os postulados de Koch (1882). Com o resultado das medidas, foi calculado o índice de velocidade crescimento micelial (IVCM).

$$IVCM = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \frac{C_n}{N_n}$$

Onde: C₁, C₂ e C_n correspondem ao crescimento micelial na primeira, segunda e última avaliação; e N₁, N₂ e N_n correspondem ao número de dias após a inoculação.

$$PIC = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento}) \times 100}{\text{Crescimento da testemunha}}$$

3. RESULTADOS

3.1. Teste de patogenicidade das espécies de *Colletotrichum*.

As espécies *C. plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. theobromicola*, *C. tropicale* e *C. fructicola* induziram lesões necróticas nas folhas de maracujazeiro (Figura 3).

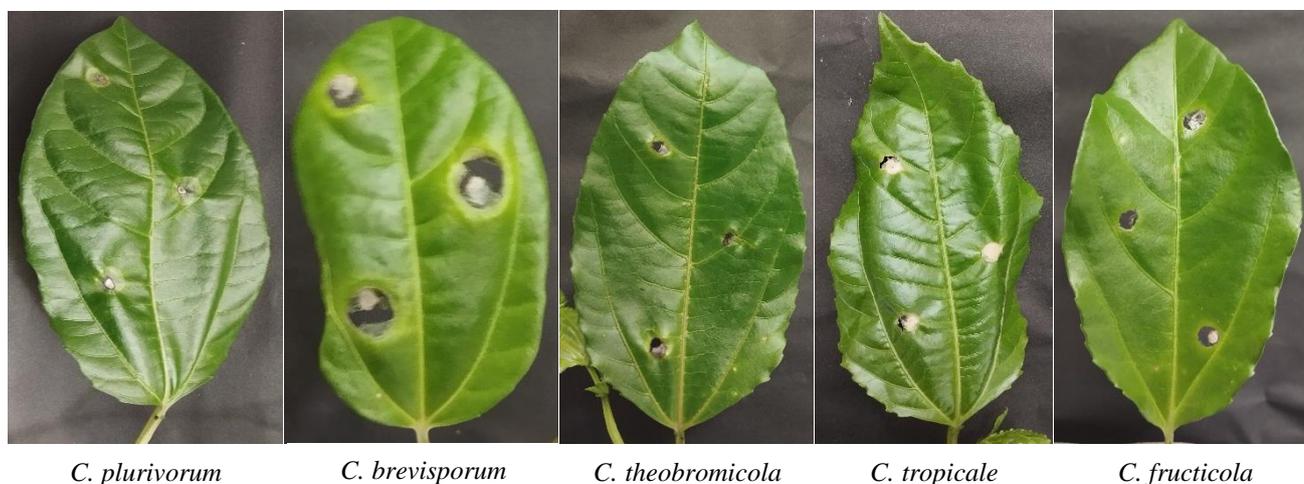


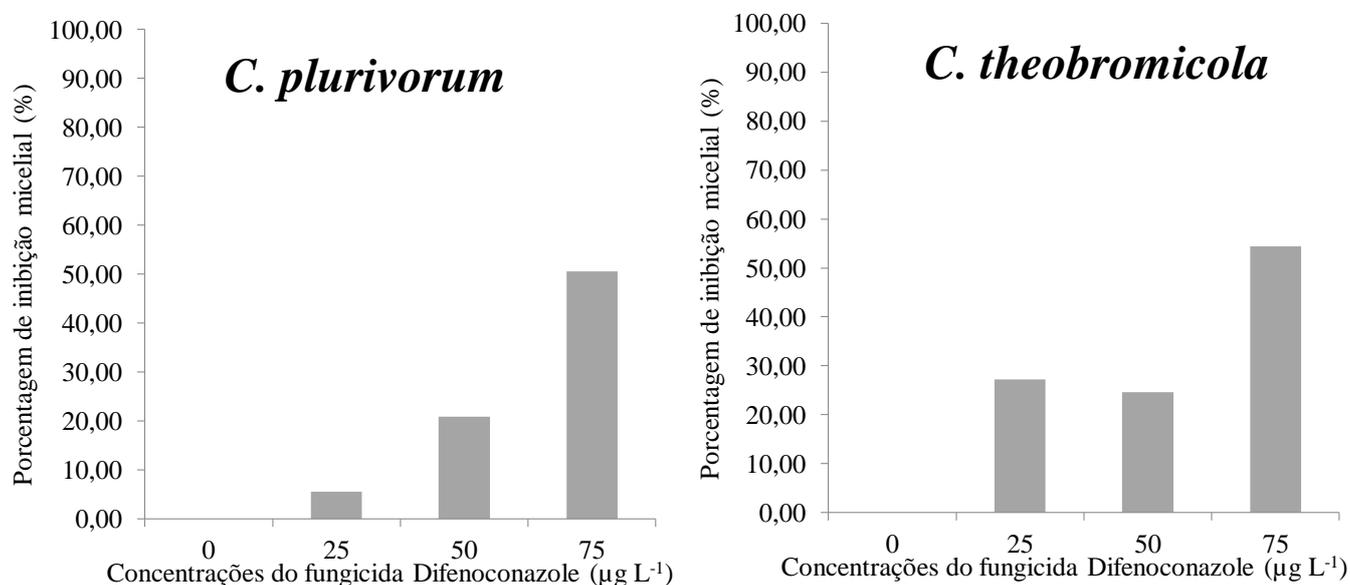
Figura 3: Teste de patogenicidade das espécies de *Colletotrichum*.

3.2. Efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial *in vitro* de *Colletotrichum* spp.

As cinco espécies de *Colletotrichum* apresentaram diferentes porcentagens no crescimento micelial (PIC) quando submetidas as concentrações dos fungicidas Difenconazole, Piraclostrobina, Flutriafol e Azoxistrobina + Difenconazole.

A maior porcentagem de inibição do crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum* foi obtida na concentração de $75 \mu\text{gL}^{-1}$ quando utilizou o fungicida Difenconazole. Observa-se que a resposta de sensibilidade das espécies de *Colletotrichum* variou de acordo com as concentrações. Por exemplo, *Colletotrichum brevisporum* apresentou a maior inibição micelial (72,30 %), enquanto que *C. tropicale* obteve a menor porcentagem de inibição (48 %), quando comparadas com as demais espécies na maior concentração ($75 \mu\text{gL}^{-1}$) (Figura 4).

A interação entre o fungicida difenconazole e as concentrações estabelecidas (25 , 50 e $75 \mu\text{gL}^{-1}$) evidenciou uma relação proporcional entre os valores da PIC, ou seja, à medida que a concentração aumentava, também aumentava os valores para a PIC, com exceção da espécie *C. theobromicola*, que apresentou comportamento diferenciado em relação as demais espécies na concentração de $50 \mu\text{gL}^{-1}$ (recomendada pelo fabricante). De forma geral, a concentração mais eficiente foi a de $75 \mu\text{gL}^{-1}$ do ingrediente ativo para todas as espécies de *Colletotrichum* (Figura 4).



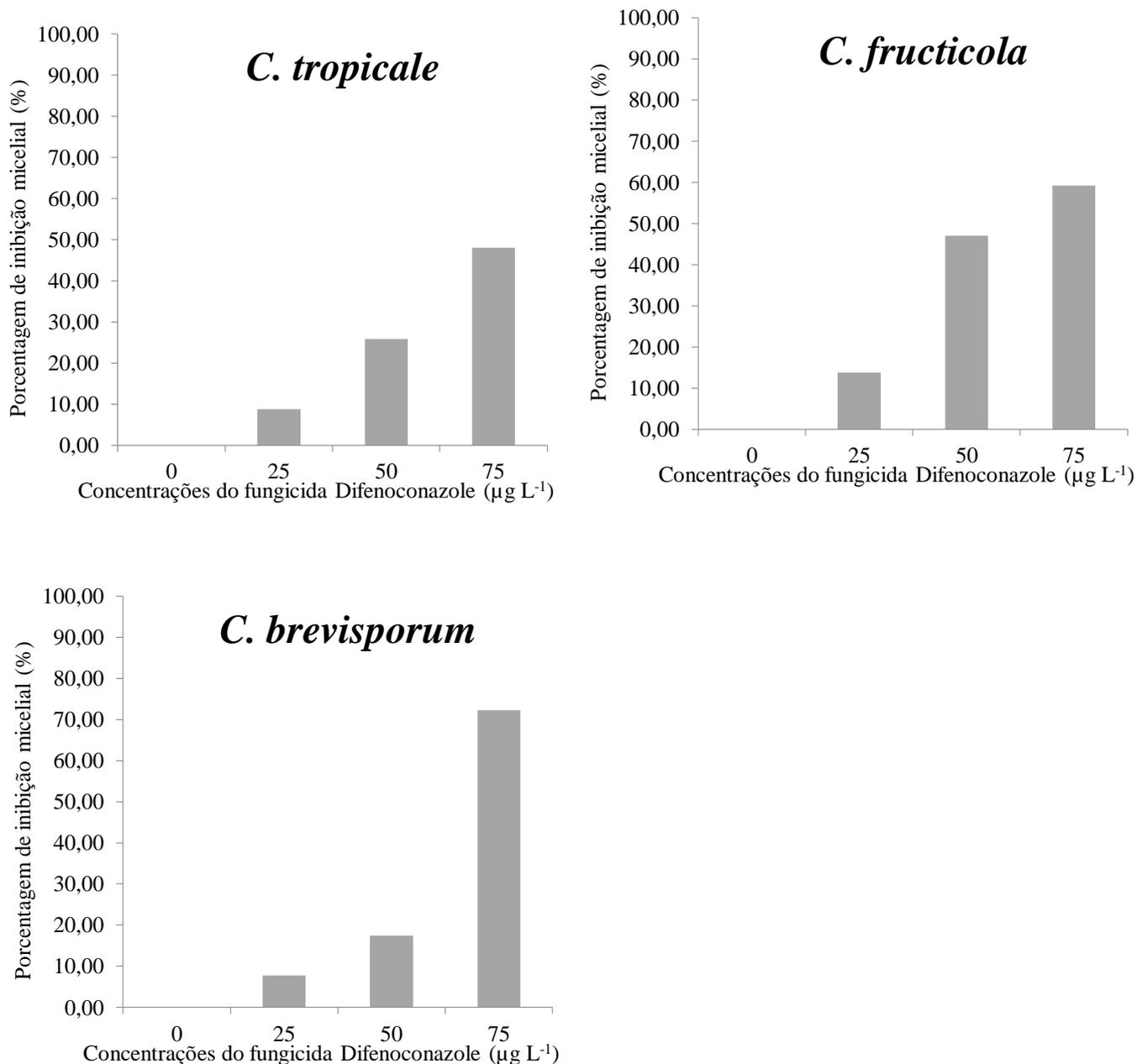
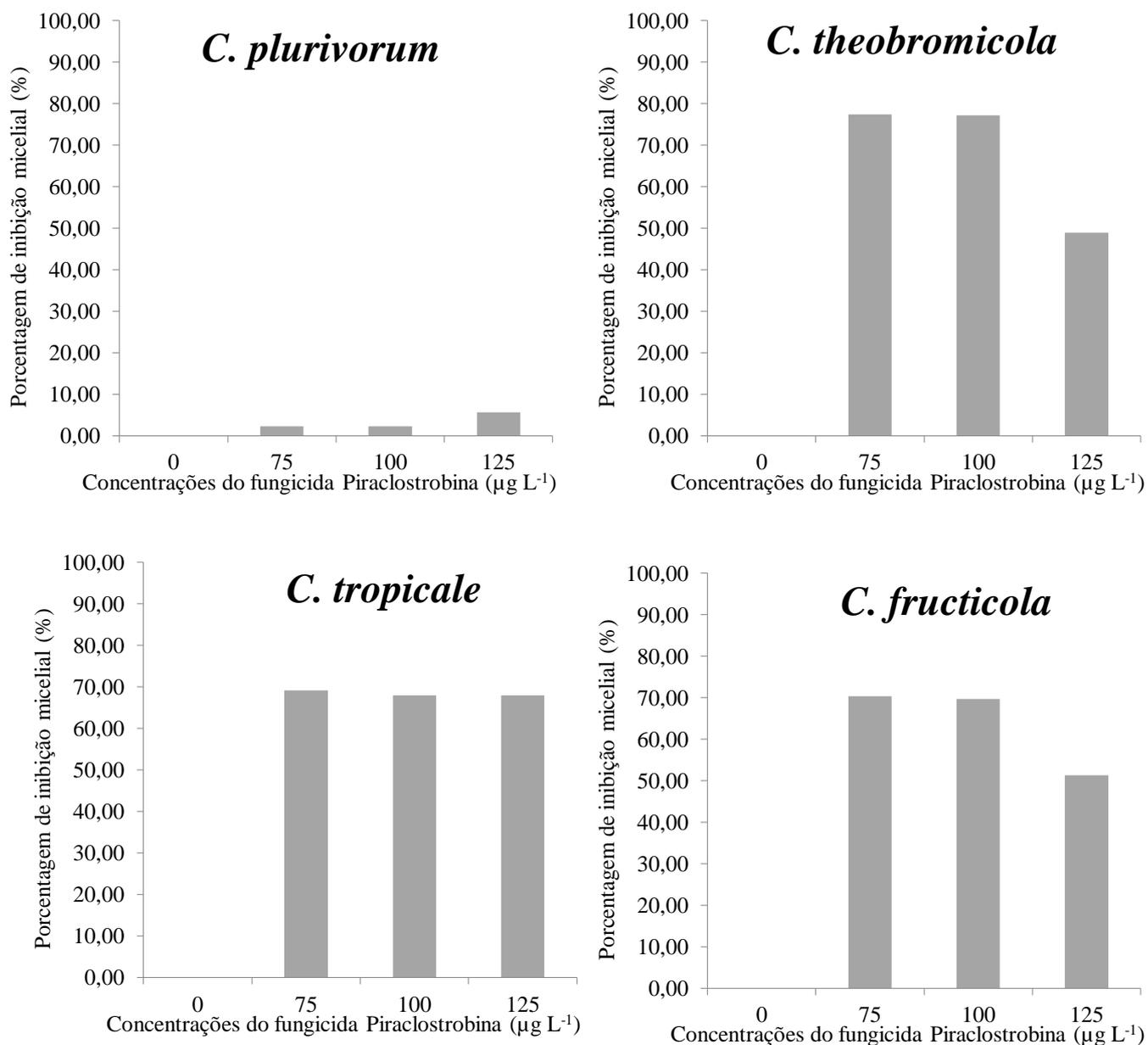


Figura 4: Porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando o fungicida difenoconazole.

Os resultados mostram que à medida que aumentavam as concentrações (75, 100 e 125 µg L⁻¹) do fungicida Piraclostrobina, também aumentava a porcentagem de inibição do crescimento micelial para a espécie *C. plurivorum*, no entanto, a PIC não ultrapassou os 5,6%. Na dose recomendada pelo fabricante (100 µg L⁻¹) foi constatada um controle de apenas 2,3%. As espécies *C. fructicola* e *C. theobromicola* apresentaram comportamento semelhantes quando submetidas as diferentes concentrações, onde houve um aumento da

PIC nas menores concentrações (75 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ – dose recomendada pelo fabricante) e uma redução micelial na maior dosagem (125 $\mu\text{g L}^{-1}$). A espécie *C. tropicale* mostrou um comportamento semelhante quando submetida as três concentrações do fungicida, variando entre 67,90 e 69,10 %. Para espécie *C. brevisporum* ocorreu uma variação quando submetida as diferentes concentrações do fungicida. Na dose recomendada pelo fabricante (100 $\mu\text{g L}^{-1}$) houve a menor redução da PIC (64,30%) em relação as demais (68,10 % - 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 79,80 - 125 $\mu\text{g L}^{-1}$) (Figura 5).



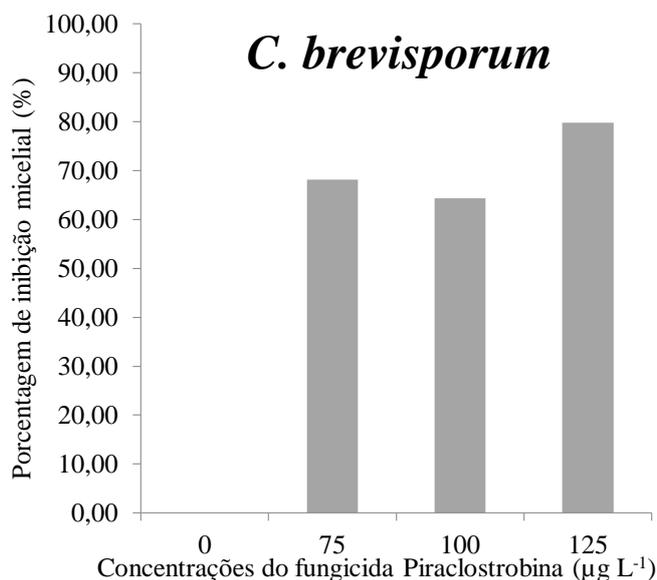
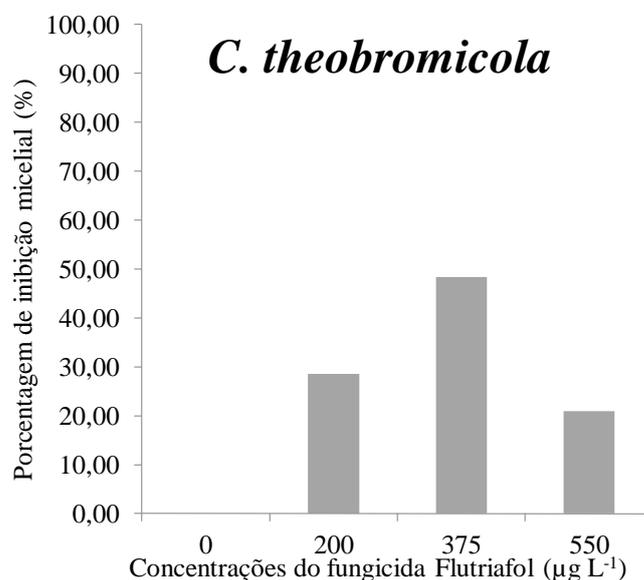
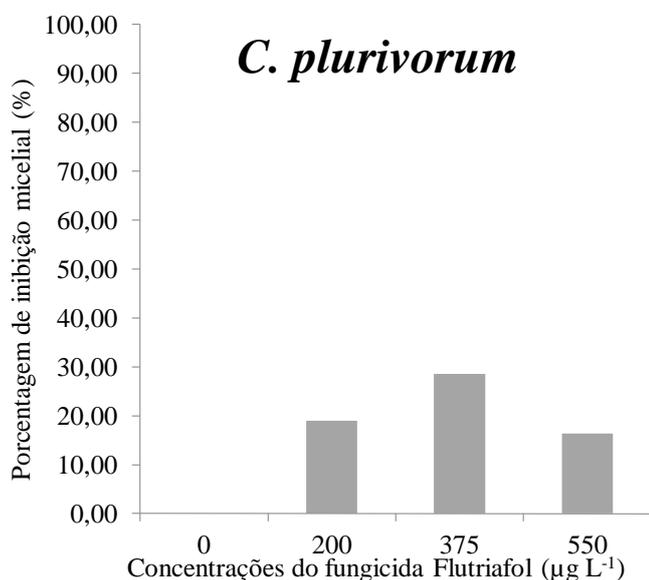


Figura 5: Porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando o fungicida piraclostrobina.

Para o fungicida Flutriafol, as maiores porcentagens de inibição do crescimento micelial foram observadas quando utilizou a dosagem recomendada pelo fabricante para o controle da antracnose na cultura do maracujazeiro ($375 \mu\text{g L}^{-1}$). Reduzindo o crescimento micelial em 48,40% para a espécie *C. theobromicola*, seguidos por *C. fructicola* (44,0%), *C. brevisporum* (44%) *C. tropicale* (43%), e *C. plurivorum* (28,6%). Na maior concentração testada ($550 \mu\text{g L}^{-1}$) observa-se que houve uma redução da PIC para todas as espécies de *Colletotrichum*, no entanto, quando submetidas a menor concentração ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) induziu uma porcentagem de inibição micelial mais eficiente, comparada a maior concentração ($550 \mu\text{g L}^{-1}$), com exceção da espécie *C. tropicale* (Figura 6).



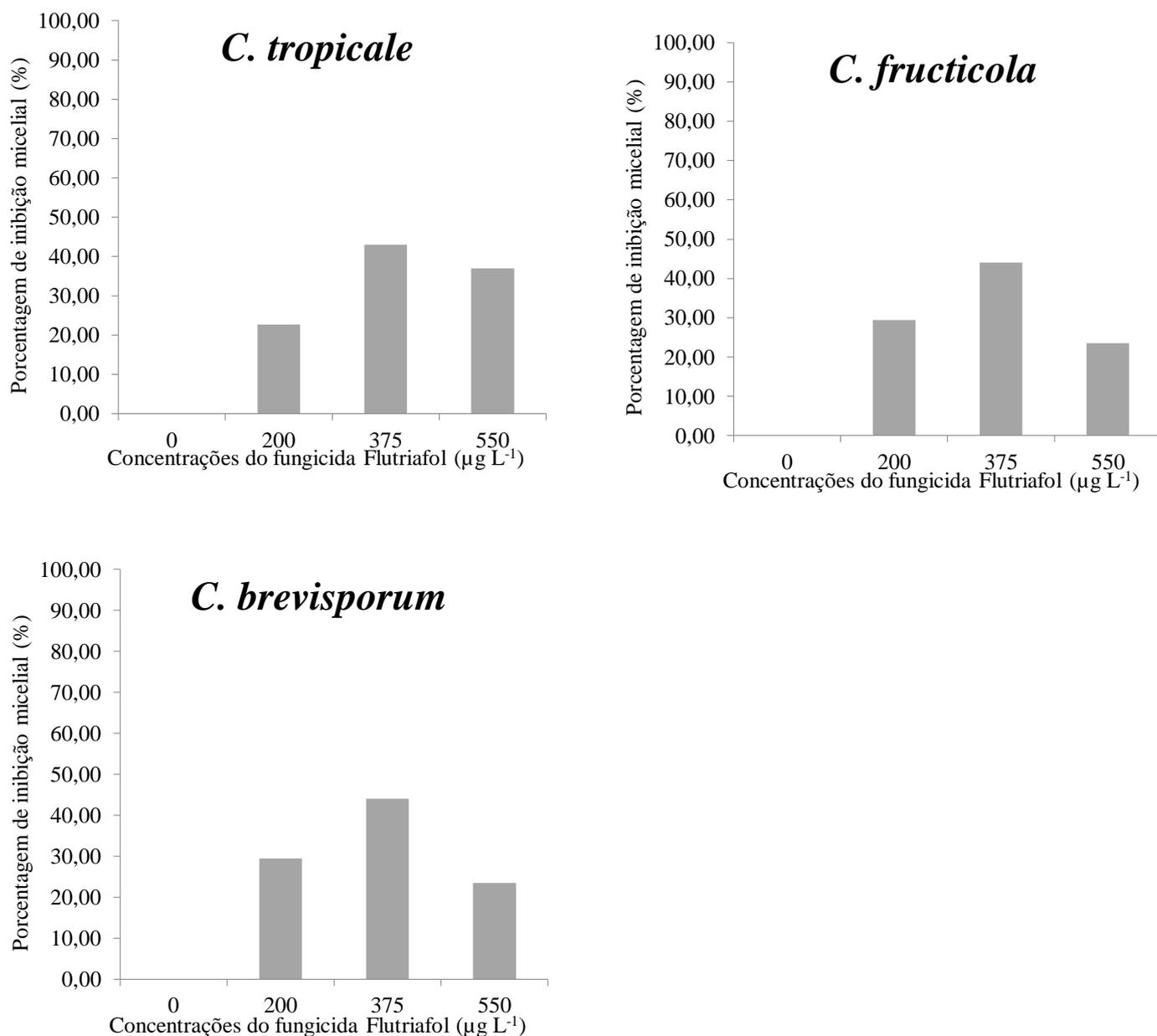


Figura 6: Porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando o fungicida flutriafol.

Quando utilizou a combinação do fungicida azoxistrobina + difenoconazole nas concentrações de 100, 163 e 226 µg L⁻¹ para o controle das espécies de *Colletotrichum* observou uma variação de 32,1% a 71,3%, em relação a porcentagem de inibição micelial. As espécies *C. plurivorum*, *C. theobromicola* e *C. brevisporum* apresentaram as maiores reduções da PIC com 50,40; 68,30 e 71,30 %, respectivamente, quando utilizou a dose recomendada pelo fabricante (163 µg L⁻¹). Para as espécies *C. tropicale* (47,40 %) e *C. fructicola* (64,50%) esse fato ocorreu na maior dosagem (226 µg L⁻¹) (Figura 7).

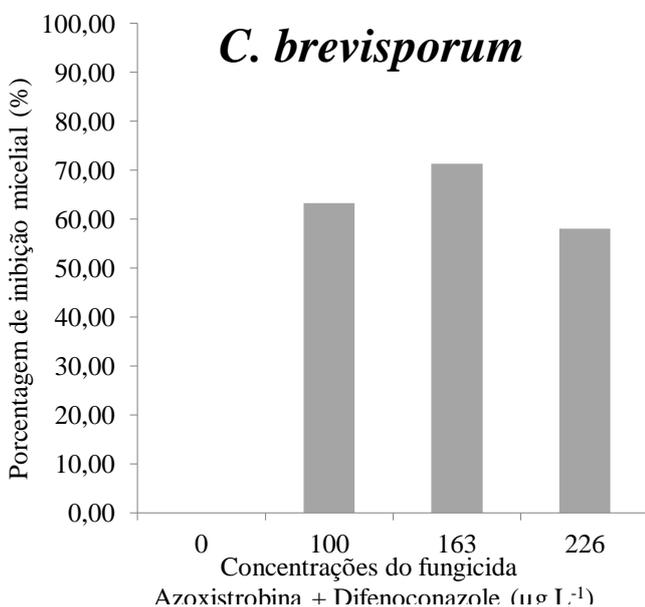
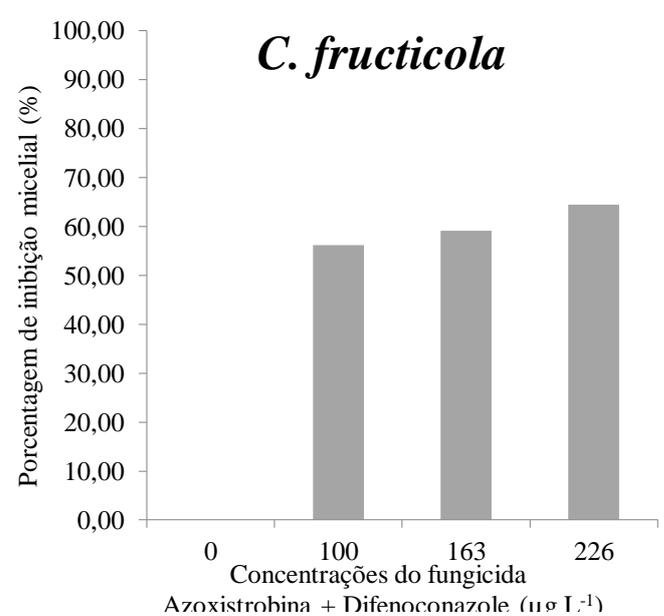
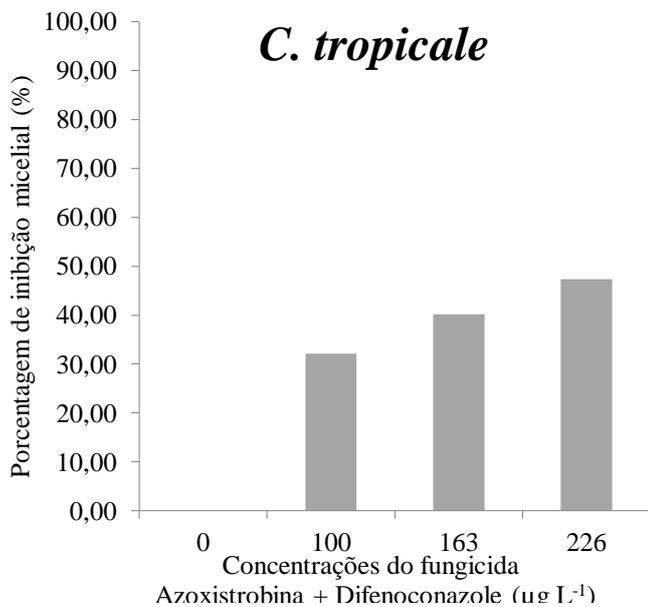
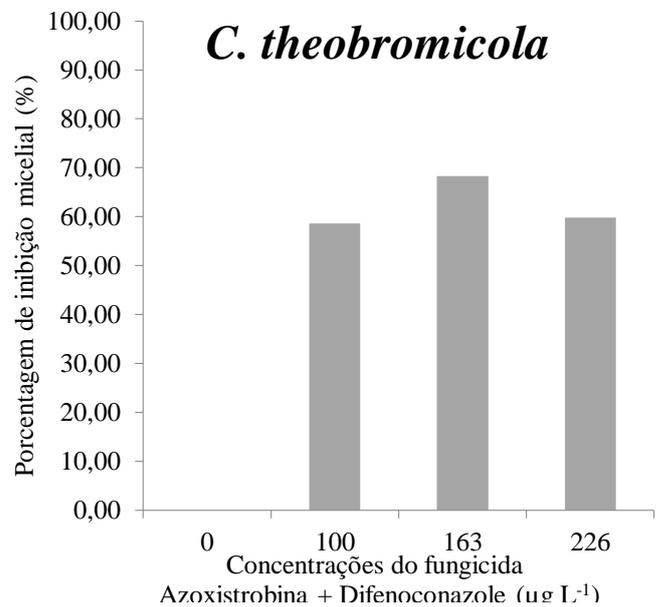
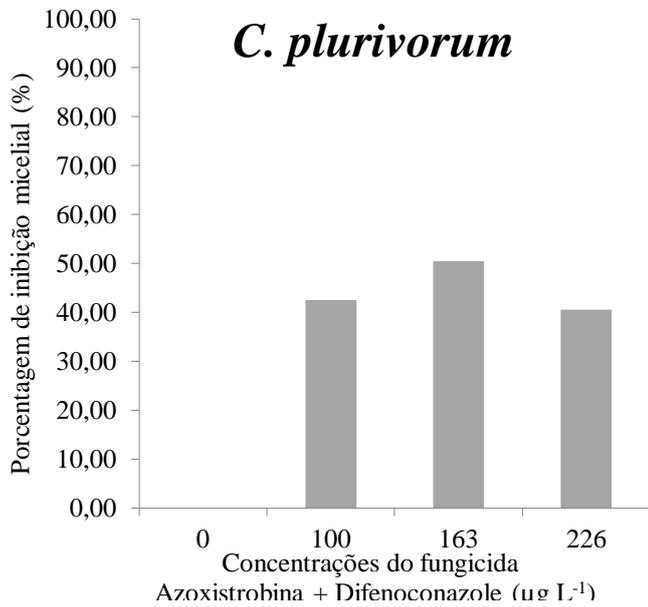


Figura 7: Porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando o fungicida Azoxistrobina + Difenconazole.

Os resultados do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) mostram que houve uma variação de acordo com o fungicida, as concentrações e as espécies do fungo indicando uma diferença significativa, principalmente, quando comparadas as suas respectivas testemunhas, induzindo diferentes níveis de controle (valores para cada espécie/testemunha), exceto a espécie *C. plurivorum* quando submetida ao fungicida piraclostrobina (Tabela 3).

Na concentração mais efetiva do ingrediente ativo ($75 \mu\text{g L}^{-1}$) para o fungicida difenoconazole, observa-se que todas as espécies de *Colletotrichum* apresentaram redução no índice de velocidade de crescimento micelial, diferindo das demais concentrações. A espécie *C. brevisporum*, na maior concentração, apresentou o menor IVCM com 1,24 cm, evidenciando uma maior sensibilidade ao fungicida. Observa-se ainda que algumas espécies dentro das concentrações testadas apresentaram comportamento semelhantes, por exemplo, as espécies *C. plurivorum*, *C. tropicale* e *C. brevisporum* na concentração de $25 \mu\text{g L}^{-1}$, já *C. plurivorum* e *C. theobromicola* à $50 \mu\text{g L}^{-1}$ não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 3A; Figura 8).

No fungicida Piraclostobina observa-se uma redução acentuada no IVCM na concentração 75 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$, quando comparada com a testemunha, e um posterior aumento ou estabilidade no IVCM na maior concentração ($125 \mu\text{g L}^{-1}$), exceto na espécie *C. brevisporum*, que continuou reduzindo seu crescimento, sendo esta a espécie mais suscetível. Contudo, a espécie *C. plurivorum* manteve um IVCM constante, sem muita oscilação em todas as concentrações testadas (0; 75; 100 e $125 \mu\text{g L}^{-1}$), apresentando assim, a espécie menos suscetível ao fungicida piraclostobina (Tabela 3B; Figura 9).

Todas as concentrações testadas do fungicida Flutriafol diferiram estatisticamente das testemunhas, além disso, em todas as espécies de *Colletotrichum* tiveram uma maior redução do IVCM na concentração indicada para a cultura ($375 \mu\text{g L}^{-1}$). Embora não haja diferença significativa, as espécies *C. fructicola* (2,30 cm) e *C. brevisporum* (2,33 cm) apresentaram o menor índice de velocidade de crescimento micelial, seguido das espécies *C. theobromicola* (2,42 cm) e *C. tropicale* (2,62 cm). Sendo a espécie *C. plurivorum* (3,14 cm) a que apresentou a maior resistência na concentração $375 \mu\text{g L}^{-1}$. Na concentração $550 \mu\text{g L}^{-1}$ verificou-se um aumento no IVCM de todas as espécies quando comparados com as demais concentrações (200 e $375 \mu\text{g L}^{-1}$), exceto a espécie *C. tropicale* quando

comparado a concentração de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ na concentração, porém todos os valores ficando abaixo das respectivas testemunhas (Tabela 3C; Figura 10).

Tabela 3: Médias da inibição de velocidade de crescimento micelial (IVCM) nas distintas concentrações dos fungicidas Difenconazole, Piraclostrobina, Flutriafol e Azoxistrobina + Difenconazole no controle de *Colletotrichum* spp.

(A) FUNGICIDA DIFENOCONAZOLE				
ESPÉCIES	Concentrações ($\mu\text{g de i.a.mg L}^{-1}$)			
	Médias			
	Testemunha	25	50	75
<i>C. plurivorum</i>	4,43 bA	4,16 aB	3,48 abC	2,18 abD
<i>C. theobromicola</i>	4,72 aA	3,42 bB	3,54 abB	2,14 bC
<i>C. tropicale</i>	4,61 abA	4,19 aB	3,41 bC	2,39 aD
<i>C. fructicola</i>	4,06 cA	3,53 bB	2,17 cC	1,67 cD
<i>C. brevisporum</i>	4,52 abA	4,15 aB	3,72 aC	1,24 dD
Espécies (E)	103.3927 **			
Concentrações (C)	1597.4797 **			
Interação E x C	38.1674 **			
CV%	4,03			

(B) FUNGICIDA PIRACLOSTROBINA				
ESPÉCIES	CONCENTRAÇÕES ($\mu\text{g de i.a.mg L}^{-1}$)			
	MÉDIAS			
	Testemunha	75	100	125
<i>C. plurivorum</i>	4,43 aA	4,68 aA	4,52 aA	4,16 aB
<i>C. theobromicola</i>	4,72 aA	1,06 cC	1,07 dC	2,40 bB
<i>C. tropicale</i>	4,61 aA	1,42 bB	1,48 bcB	1,48 dB
<i>C. fructicola</i>	4,06 bA	1,22 bcC	1,24 cdC	2,0 cB
<i>C. brevisporum</i>	4,52 aA	1,43 bB	1,60 bB	0,91 eC
Espécies (E)	753.0938 **			
Concentrações (C)	1368.4328 **			
Interação E x C	118.2010 **			
CV%	6,20			

(C) FUNGICIDA FLUTRIAFOL				
ESPÉCIES	CONCENTRAÇÕES ($\mu\text{g de i.a.mg L}^{-1}$)			
	MÉDIAS			
	Testemunha	200	375	550
<i>C. plurivorum</i>	4,43 aA	3,57 aB	3,14 aC	3,68 aB
<i>C. theobromicola</i>	4,72 aA	3,36 abC	2,42 bD	3,72 aB
<i>C. tropicale</i>	4,61 aA	3,56 aB	2,62 bC	2,90 bC
<i>C. fructicola</i>	4,06 bA	2,89 cB	2,30 bC	3,14 bB
<i>C. brevisporum</i>	4,52 aA	3,06 bcB	2,33 bC	3,21 bB

Espécies (E)	31.7120 **
Concentrações (C)	441.0857 **
Interação E x C	8.4657 **
CV%	5,50

(D) FUNGICIDA AZOXISTROBINA + DIFENOCONAZOLE

ESPÉCIES	CONCENTRAÇÕES (μg de i.a.mg L ⁻¹)			
	MÉDIAS			
	Testemunha	100	163	226
<i>C. plurivorum</i>	4,43 bA	2,53 bB	2,18 bC	2,61 aB
<i>C. theobromicola</i>	4,72 aA	1,95 cB	1,73 cC	1,89 cBC
<i>C. tropicale</i>	4,61 abA	3,12 aB	2,75 aC	2,42 bD
<i>C. fructicola</i>	4,06 cA	1,79 cdB	1,68 cB	1,46 dC
<i>C. brevisporum</i>	4,52 bA	1,65 dC	1,29 dD	1,89 cB
Espécies (E)	326.7603 **			
Concentrações (C)	3505.4154 **			
Interação E x C	45.3794 **			
CV%	3,83			

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey.

(**) Significativo a 1% de probabilidade ($p < .01$).

(*) significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$).

(ns) não significativo ($p \geq .05$)

O fungicida Azoxistrobina + Difenconazole obteve maior velocidade de crescimento micelial na concentração 100 μg L⁻¹ em todas as espécies de *Colletotrichum*, exceto a espécie *C. brevisporum* que seu maior IVCm foi na concentração 226 μg L⁻¹. As maiores reduções no IVCm oscilaram entre as concentrações 163 e 226 μg L⁻¹, evidenciando o comportamento distinto das diferentes espécies frente ao fungicida. As espécies *C. plurivorum*, *C. brevisporum* e *C. theobromicola* apresentaram as maiores reduções na concentração 163 μg L⁻¹, com 2,18; 1,29; e 1,73 cm, respectivamente. Podemos observar que na concentração 226 μg L⁻¹ teve uma pequena redução na velocidade de crescimento micelial para estas espécies. *C. fructicola* (1,46 cm) e *C. tropicale* (2,42 cm) reduzindo o IVCm na maior concentração (Tabela 3D; Figura 11).

DIFENOCONAZOLE

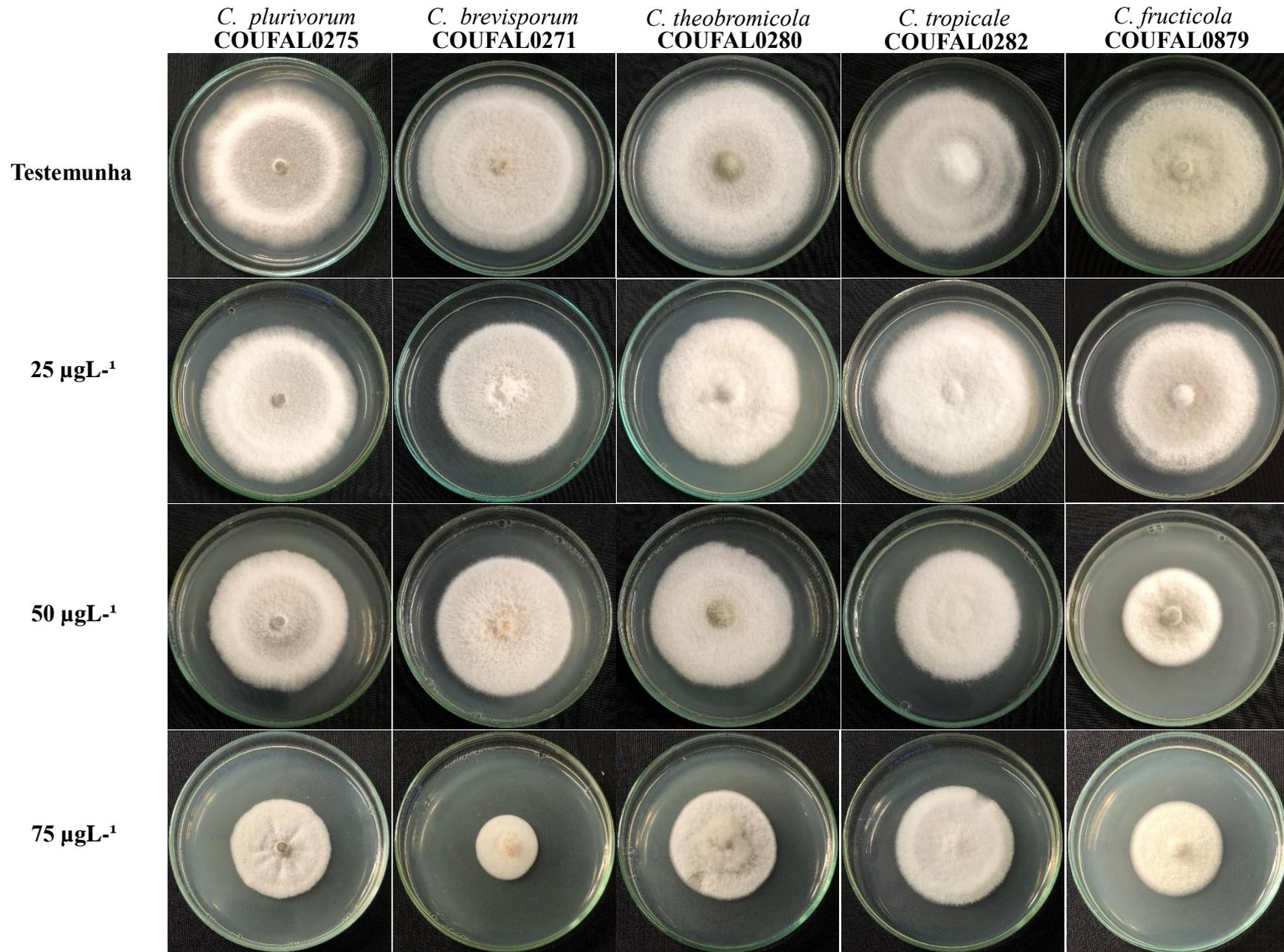


Figura 8: Sensibilidade de Colletotrichum spp. nas diferentes concentrações do fungicida Difenconazole.

PIRACLOSTROBINA

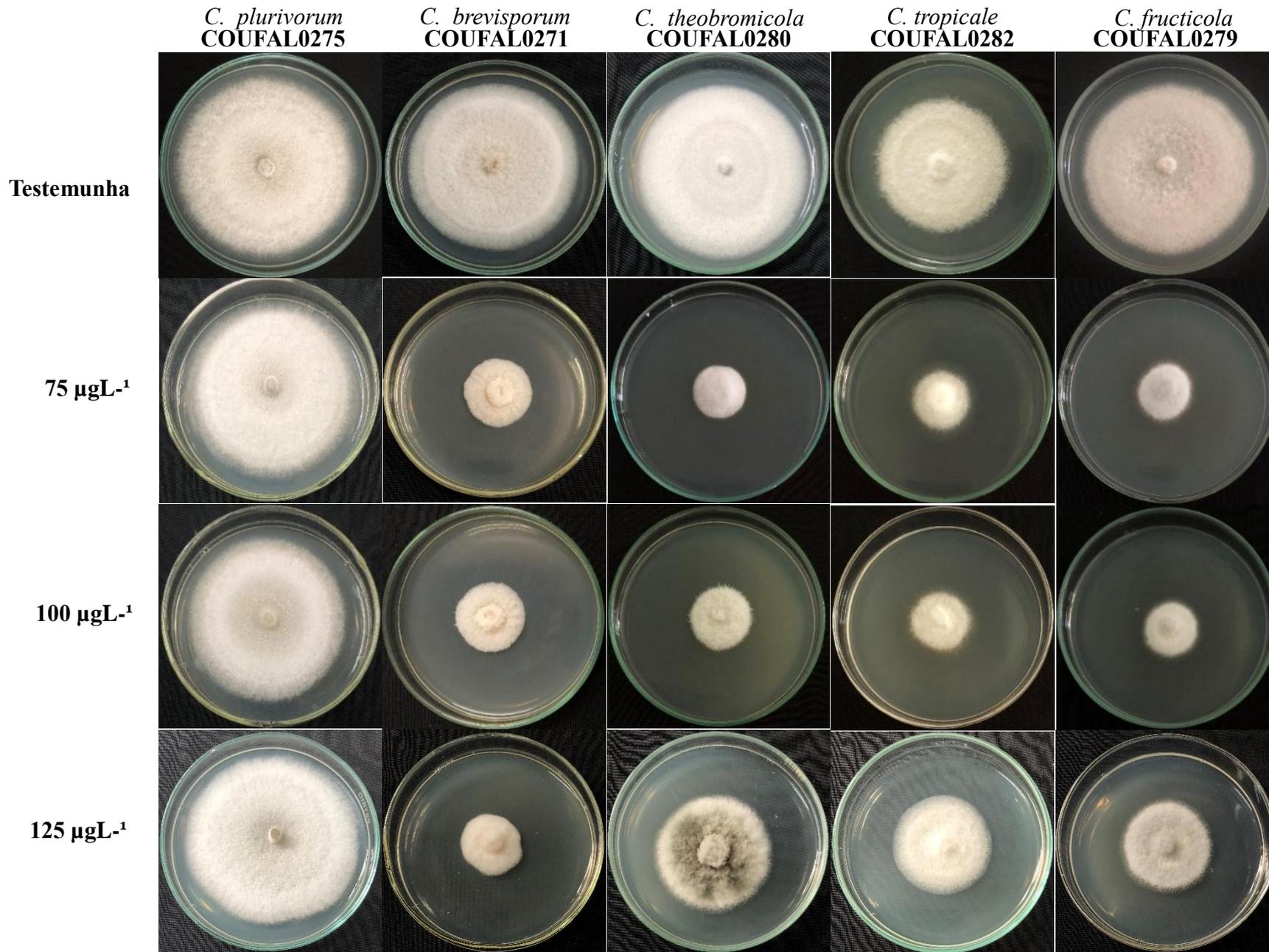


Figura 9: Sensibilidade de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações do fungicida Piraclostrobina.

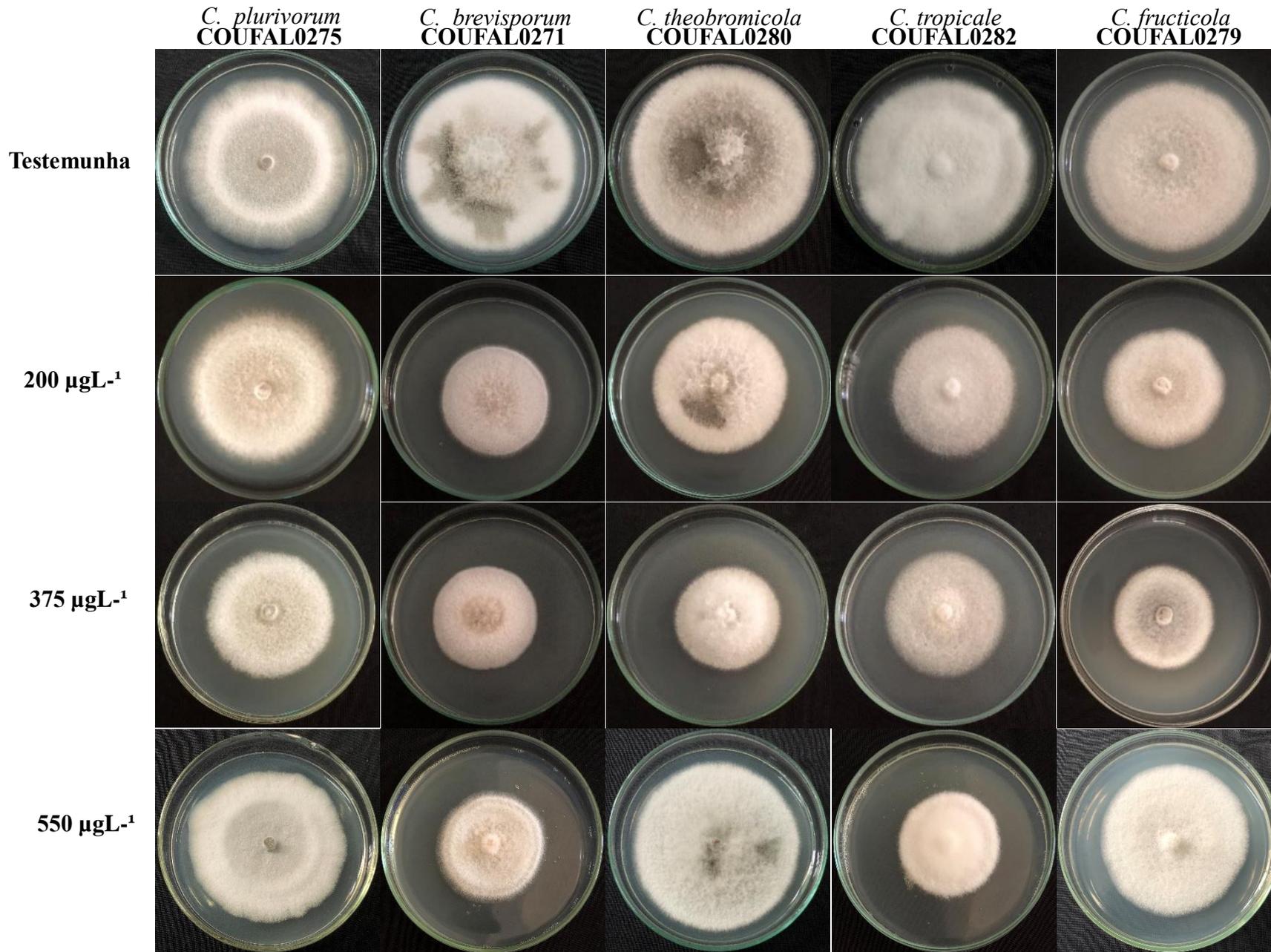


Figura 10: Sensibilidade de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações do fungicida Flutriafol.

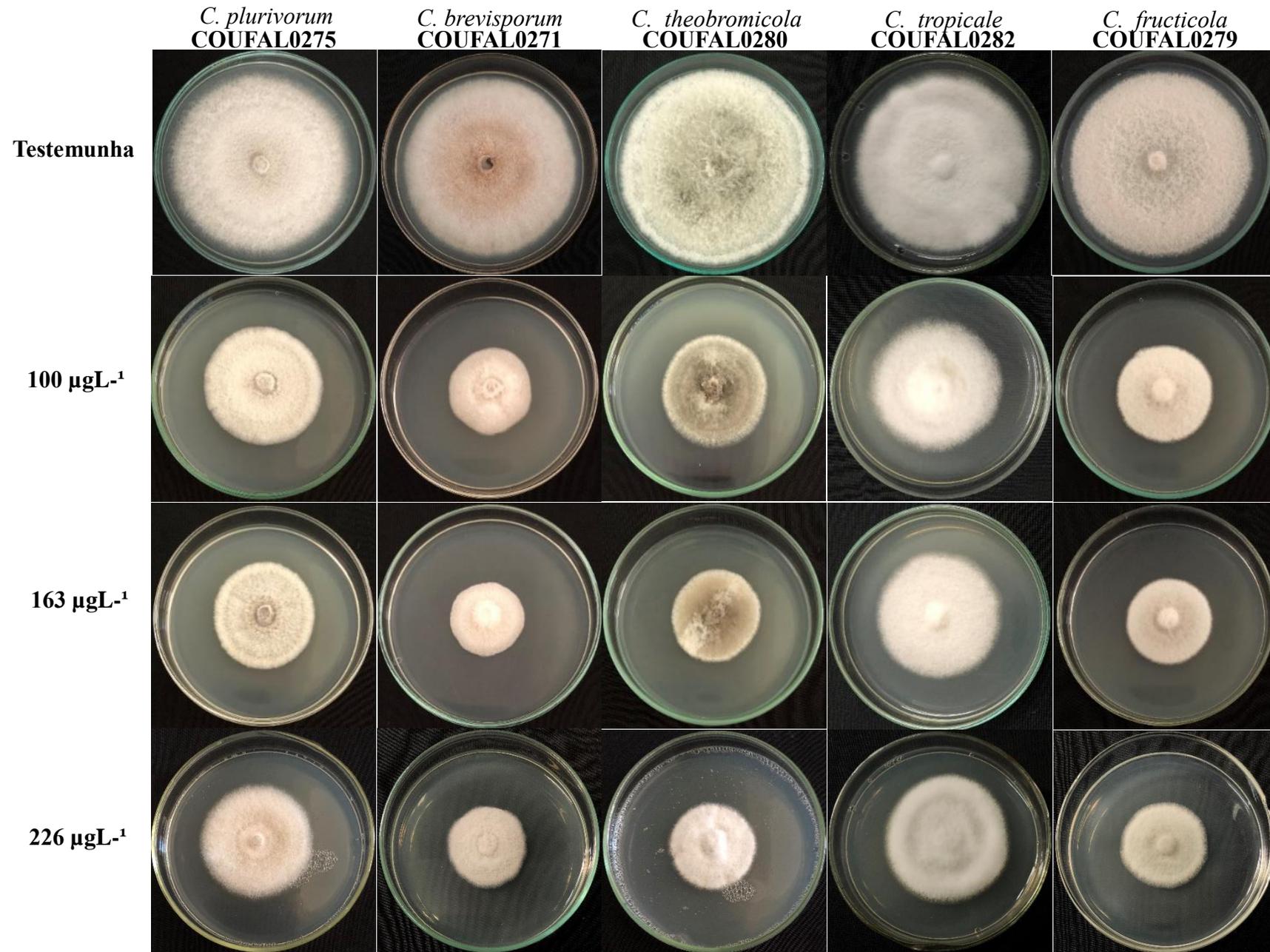


Figura 11: Sensibilidade de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações do fungicida Azoxistrobina + Difenconazole.

3.3. Efeito de fungicidas sobre *Colletotrichum* spp. em mudas de maracujazeiro

Quando avaliado o efeito do fungicida piraclostrobina, as espécies *C. plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. tropicale*, *C. theobromicola* e *C. fructicola* induziram lesões necróticas de coloração marrom e bordas irregulares ou circular em mudas de maracujazeiro. As testemunhas diferiram estatisticamente dos tratamentos curativo e preventivos para todas as espécies (Tabela 4; Figura 12).

No tratamento curativo, as lesões variaram de 0,24 a 0,67 cm, sendo *C. tropicale* a espécie menos agressiva, enquanto *C. brevisporum* apresentou lesões de maior tamanho (Tabela 4; Figura 12).

O tratamento preventivo mostrou-se mais eficiente na redução no tamanho das lesões comparadas com a testemunha para todas as espécies de *Colletotrichum*, exceto *C. plurivorum*, que obteve lesões maiores do que as apresentadas no teste curativo, no entanto, não houve diferença entre os dois tratamentos. Pode-se observar também que a espécie *C. brevisporum*, responsável pela maior agressividade, obteve a maior redução no tamanho da lesão em relação à testemunha (Tabela 4; Figura 12).

Tabela 4: Severidade da antracnose *in vivo* de *Colletotrichum* spp.

FUNGICIDA PIRACLOSTROBINA (100 µg de i.a.mg L ⁻¹)					
TRATAMENTOS	ESPÉCIES (MÉDIAS) (cm)				
	<i>C. plurivorum</i>	<i>C. brevisporum</i>	<i>C. tropicale</i>	<i>C. theobromicola</i>	<i>C. fructicola</i>
Testemunha	1,15 a	1,50 a	0,36 a	0,52 a	0,52 a
Curativo	0,45 b	0,67 b	0,24 b	0,38 b	0,38 b
Preventivo	0,60 b	0,17 c	0,13 c	0,14 c	0,14 c
Período de Incubação (Dias)	2	2	4	4	4
CV%	24,51	21,15	13,05	15,44	15,44

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey.



Figura 12: Sensibilidade *in vivo* de *Colletotrichum* spp. ao fungicida piraclostrobina

4. DISCUSSÃO

Buscam-se estratégias de manejo eficazes com fungicidas utilizando diferentes modos de ação, devido à falta de cultivares resistentes. Com isso, os fungicidas do grupo da estrobilurina, inibidores externos de quinina (Piraclostrobina) e os inibidores de desmetilação (Difenoconazole, Flutriafol) têm sido usados para controlar a antracnose em diversas culturas de importância econômica (XU et al., 2014), além das misturas que tem mais de um modo de ação para controle de fungos, como é o caso da associação da azoxistrobina (QoIs) juntamente com difenoconazole (DMIs) (AMISTAR TOP, 2023). Portanto, testamos quatro fungicidas (Difenoconazole, Piraclostrobina, Flutriafol e Azoxistrobina + Difenoconazole) no controle de *C. theobromicola*, *C. tropicale*, *C. fructicola*, *C. brevisporum* e *C. plurivorum*, patógenos que causam a doença antracnose do maracujazeiro (SILVA et al., 2022), com a finalidade de contribuir com o melhor entendimento da sensibilidade dessas espécies aos fungicidas, visto que são liberados unicamente para o controle da antracnose causada por *C. gloeosporioides s.s.*

Os resultados obtidos demonstram que as cinco espécies de *Colletotrichum* apresentam comportamentos diferenciados quando submetidas as diferentes concentrações do mesmo fungicida. Por exemplo, *Colletotrichum* spp. submetidas a uma dosagem maior do que a recomendada para a antracnose de maracujazeiro evidenciou uma resposta inversa ao esperado, apresentando um aumento no IVCm para *C. theobromicola*, e *C. fructicola* com o fungicida piraclostrobina; *C. plurivorum*, *C. theobromicola* e *C. brevisporum* com o fungicida combinado Azoxistrobina + Difenoconazole e, para todas as espécies quando utilizou flutriafol. Quando o fungicida foi difenoconazole, as espécies *C. plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. theobromicola*, *C. tropicale* e *C. fructicola* continuaram a reduzir seu IVCm.

Diferenças nas sensibilidades entre complexos de espécies e até mesmo entre espécies dentro do mesmo complexo, como é o caso de *C. theobromicola*, *C. fructicola* e *C. tropicale* que pertencem ao complexo *C. gloeosporioides*, também foram observadas neste estudo, principalmente, quando utilizamos a dosagem recomendada pelo fabricante de cada fungicida para a antracnose. Resultados semelhantes foram observados por Munir et al. (2016) onde puderam constatar que os isolados do complexo *C. magnum* eram menos sensíveis aos fungicidas, em comparação com os isolados do complexo de espécies *C. gloeosporioides*. Ademais, no mesmo estudo, espécies dentro do complexo *C. gloeosporioides* mostraram-se mais sensíveis que outras, como por exemplo, *C. siamense* foi mais sensível aos fungicidas testados em comparação com *C. fructicola* e *C. theobromicola* (MUNIR et al. 2016). No estudo

de Rebello et al. (2022) observaram que *C. nymphaeae* e *C. fioriniae*, agentes causais da antracnose do morangueiro, apresentaram diferentes níveis de sensibilidade ao mesmo fungicida, ambas as espécies pertencem ao complexo *C. acutatum*. Nossos estudos ressaltam a importância de compreender a sensibilidade *in vitro* dessas espécies aos diferentes fungicidas, que posteriormente ajudará no manejo da doença no campo. Pois, vale ressaltar que, cada patógeno apresenta comportamento diferenciado quando submetidos ao mesmo fungicida.

Observa-se ainda que apesar dos fungicidas difenoconazole e o flutriafol serem do mesmo grupo químico, apresentaram resultados distintos frente as cinco espécies de *Colletotrichum* estudadas. Apesar da indicação de uma maior dosagem do fungicida flutriafol pelo fabricante, em relação aos demais fungicidas usados no estudo, para o controle da antracnose, constatou-se que houve baixa inibição do crescimento micelial quando comparado com difenoconazole, além disso, o fungicida apresentou uma resposta inesperada com o aumento da concentração do produto. Schoeneberg e Hu. (2022) testaram a eficácia de diferentes fungicidas inibidores da desmetilação (DMIs) e misturas combinadas para o controle da antracnose em morangueiro (*Fragaria L.*) causadas por *C. fioriniae*, *C. siamense* e *C. nymphaeae*, os autores afirmam que difenoconazole é uma alternativa para o controle dessas espécies, enquanto flutriafol não apresentou eficácia. No trabalho de Chen et al. (2016) verificaram que a espécie *C. nymphaeae* foi resistente a flutriafol e sensível a difenoconazole, enquanto as espécies *C. fructicola* e *C. siamense* foram sensíveis a ambos. Apesar das espécies *C. gloeosporioides*, *C. boninense*, *C. brasiliense*, *C. colombiense*, *C. karstii*, *C. torulosum*, *C. tropicale*, *C. fructicola*, *C. theobromicola*, *C. brevisporum*, *C. plurivorum*, *C. siamense* e *C. constrictum* serem relatadas associadas à antracnose em maracujazeiro em diversas regiões ao redor do mundo (DAMM et al., 2012; DAMM et al., 2019; SILVA et al., 2021; SILVA et al., 2022; TOZZE et al., 2010; ZHANG et al., 2022; WANG et al., 2021), o uso dos fungicidas liberados para controle da antracnose no maracujazeiro é recomendado apenas para *C. gloeosporioides s.s.* (SCORE, 2022; COMET, 2023; FLUTRIAFOL, 2023; AMISTAR TOP, 2023). Em contrapartida, Lima et al. (2015) demonstraram que *Colletotrichum* spp. apresentam comportamento distintos sobre diferentes fungicidas e que este conhecimento pode ser utilizado para auxiliar e direcionar a escolha dos ingredientes ativos mais adequados no controle da doença.

A diversidade de respostas das espécies de *Colletotrichum* em relação aos fungicidas e os mecanismos de ação desses produtos é um ponto importante a ser considerado. Ghini e Kimati (2002) e Amorim et al. (2011) afirmam que os triazóis apresentam baixo risco de falhas

no controle dos fungos fitopatogênicos. Os fungicidas inibidores de desmetilação (DMI) estão entre as poucas classes químicas como modo de ação em local único, bloqueando o processo bioquímico para produção de esteróis metilizados nos fungos fitopatogênicos, eficazes no controle da doença antracnose (CHEN et al., 2018). No entanto, dentre os fungicidas utilizados no estudo, difenoconazole e flutriafol foram os que apresentaram as menores porcentagens de inibições para a maioria das espécies de *Colletotrichum* associadas a antracnose do maracujazeiro. De forma geral, observamos que as espécies de *Colletotrichum* quando submetidas aos fungicidas difenoconazole e flutriafol foram menos sensíveis em relação aos demais fungicidas utilizados, principalmente, quando analisamos a dose recomendada pelo fabricante na PIC. Os dados obtidos divergem do que foi observado em diversos trabalhos disponíveis na literatura como Chen et al. (2016), onde *C. fiorinae* e *C. nymphaeae*, provenientes de pessego (*Prunus persica*), foram sensíveis a diversos fungicidas inibidores de demetilização. Shi et al. (2021) relatam alta sensibilidade das espécies *C. enigma*, *C. scovillei*, *C. truncatum* e *C. fructicola* quando o fungicida foi difenoconazole. O fungicida flutriafol, de forma geral, obteve as menores porcentagens de inibição. Os resultados obtidos no trabalho de Chen et al. (2016) divergem dos estudos de Adriano et al. (2022), onde observaram que ao usar o fungicida flutriafol sobre os gêneros fungico *Neofusicoccum*, *Colletotrichum* e *Pestalotiopsis*, provenientes de folha e frutos de cajueiro, mostrou-se eficiente no controle da antracnose.

Autores relatam a resistência de algumas espécies de *Colletotrichum* aos fungicidas DMI, como por exemplo, um isolado *C. truncatum* que mostrou resistente ao flutriafol e obtendo baixa sensibilidade ao difenoconazole (CHEN et al., 2018). Ao analisarem o genoma foi identificado quatro variações de aminoácidos L208Y, H238R, S302A e I366L em CYP51A, reduzindo a afinidade azólica, e as variações H373 N, M376L em CYP51B que estavam correlacionados com a resistência do DMI alterando a conformação no sítio de ligação dos fungicidas desta classe (CHEN et al., 2018).

Em relação a junção dos princípios ativos de difenoconazole (DIF - DMIs) e azoxistrobina (AZO - QoIs), misturas que vem tendo cada dia mais aceitação no mercado de produtos químicos, tornando-se uma propensão por serem fungicidas de amplo espectro, englobando o controle dos maiores e mais importantes grupos de fitopatógenos (MACIEL & CHAVES, 2007). Neste trabalho, obteve-se ótimos resultados na inibição do crescimento micelial para todas as espécies de *Colletotrichum* quando utilizamos Azoxistrobina + Difenoconazole. Carraro et al. (2023) relatam resultados satisfatórios no controle da antracnose em frutos maduros e imaturos de caqui (*Diospyros kaki*), causada pelas espécies *C. nymphaeae*,

C. melonis, *C. hortii* e *C. chrysophilum*, com uso de formulações mistas com QoI e DMI, e, dentre eles, a mistura de AZO+DIF. Alguns autores relatam a eficiência dessa combinação (Azoxistrobina + Difenconazole) e afirmam que o sucesso para o controle das espécies de *Colletotrichum* deve-se ao fato desses compostos apresentarem modos de ação diferentes como os fungicidas inibidores de extracelulares de Quinona – QoIs e os inibidores de desmetilação - DMIs (SHANTHINI et al., 2021; KUMAR et al., 2020).

O fungicida piraclostrobina reduziu significativamente o IVCN *in vitro* para todas as espécies de *Colletotrichum*, exceto para *C. plurivorum*, na dosagem recomendada para controle da antracnose e mostrou-se eficaz no manejo preventivo e curativo. Pesquisas realizadas por Shi et al. (2021) apontam bons resultados no controle das espécies *C. aenigma*, *C. scovillei*, *C. truncatum* e *C. fructicola*, tanto *in vitro*, como em casa de vegetação, quando utilizaram piraclostrobina. Gao et al. (2017) mostraram que piraclostrobina foi inibitória tanto para o crescimento micelial quanto para a germinação de esporos de *C. acutatum*. Os autores também observaram uma atividade protetora por até 96 h antes da inoculação, bem como atividade curativa até 72 h após a inoculação do patógeno. Os dados obtidos por estes autores corroboram com as informações do nosso trabalho.

De forma geral, as pesquisas mostram que os fungicidas sistêmicos agem de maneira específica inibindo um ou poucos processos metabólicos vitais ao fungo evitando fitotoxicidade, enquanto os fungicidas protetores são inibidores inespecíficos que afetam inúmeras vias. A especificidade dos fungicidas sistêmicos faz com que haja um controle limitado de grupos taxonômicos e essa forma de ação seletiva faz com que eles percam a resistência com mais facilidade (GHINI & KIMATI, 2002; AMORIM; REZENDE; BERGAMIN FILHO, 2011).

Os resultados desse estudo mostram que o fungicida piraclostrobina apresenta-se promissor para a redução da maioria das espécies de *Colletotrichum*, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, associadas a antracnose na cultura do maracujazeiro, visto que é uma doença de grande importância e vem causando perdas expressivas na produção em diversas áreas de plantio no nordeste do Brasil.

5. CONCLUSÕES

- Os fungicidas piraclostrobina e amistar top foram os mais eficientes no controle *in vitro* das espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em maracujazeiro.
- A sensibilidade micelial *in vitro* de *Colletotrichum* spp. difere em relação ao ingrediente ativo e suas concentrações.
- Apenas o fungicida flutriafol apresentou inibição micelial para todas as espécies de *Colletotrichum* na dose recomendada pelo fabricante.
- O controle preventivo *in vivo*, utilizando o fungicida piraclostrobina, foi o mais eficaz para as espécies *C. brevisporum*, *C. theobromicola*, *C. tropicale* e *C. fructicola*.

REFERÊNCIAS

ADRIANO, B.; ROMÃO, D.; UACIQUETE, A.; MONDJANA, A.M.; BILA, J. *In vitro* assessment of copper oxychloride and flutriafol for the control of cashew leaf and fruit blight fungi. **Agrarian and Biological Sciences**, v. 11, n. 12, 2022.

AGROFIT. 2023. Disponível em:
https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso: maio/2023

AMISTAR TOP. **Fungicida amistar top**. Disponível em:
https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtney466/files/media/document/2023/03/08/BULA_AMISTAR_TOP_FEV_23.pdf. Acesso: maio/2023

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. (4 ed.). Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. 704p.

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; FILHO, A. B. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018, p.561.

CARRARO, T.A.; LICHTEMBERG, P.S.F.; MICHAILIDES, T.J.; MIO, L.L.M. Fungicide sensitivity of *Colletotrichum* isolates and efficacy in controlling persimmon anthracnose. *Trop. plant pathol.* 2023.

CAVICHIOLO, J.C.; MELETTI, L.M.M.; NARITA, N. (2016). **aspectos da cultura do maracujazeiro no Brasil**. Disponível em: <https://www.todafruta.com.br/wp-content/uploads/2018/05/MARACUJA.pdf>. Acesso: 12/2023.

CHEN, S.; WANG, Y.; SCHNABEL, G.; PENG, C.A.P.; LAGISHETTY, S.; SMITH, K.; LUO, C.; YUAN, H. Inherent Resistance to 14 α -Demethylation Inhibitor Fungicides in *Colletotrichum truncatum* Is Likely Linked to *CYP51A* and/or *CYP51B* Gene Variants. **Phytopathology**, v.108, n.11, p. 1263-1275, 2018.

CHEN, S.N.; LUO, C.X.; HU, M.J.; SCHNSBRL, G. Sensitivity of *Colletotrichum* Species, Including *C. fioriniae* and *C. nymphaeae*, from Peach to Demethylation Inhibitor Fungicides. **Plant disease**, v. 100, n.12, p. 2434-2441, 2016.

COMET. **Fungicida piraclostrobina**. Disponível em:
https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2023-05/comet.pdf. Acesso: 05/2023

DAMM, U.; CANNON, P.F.; WOUDEMBERG, J.H.C.; CROUS, P.W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p.37-113, 2012.

DAMM, U.; CANNON, P.F.; WOUDEMBERG, J.H.C.; JOHNSTON, P.R.; WEIR, B.S.; TAN, Y.P.; SHIVAS, JOHNSTON, P.R.; WEIR, B.S.; TAN, Y.P.; SHIVAS, R.G.; CROUS,

P.W. et al. The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, n.1, p.1-36, 2012.

DAMM, U.; SATO, T.; ALIZADEH, A.; GROENEWALD, J.Z.; CROU, P.W. The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes. **Studies in Mycology**, v. 92, n.1, p.1-46, 2019.

FLUTRIAFOL. **Fungicida flutriafol**. Disponível em:

https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/tenaz250sc0920.pdf. Acesso em: 05/2023.

GAO, Y.Y.; HE, L.F.; LI, B.X.; MU, W.; LIN, J.; LIU, F. Sensitivity of *Colletotrichum acutatum* to six fungicides and reduction in incidence and severity of chili anthracnose using pyraclostrobin. **Australasian Plant Pathology**, v.46, p.521–528, 2017.

GHINI, R.; KIMATI, H. Mecanismo de ação dos fungicidas. In: GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Água riúna: Embrapa Meio Ambiente, 2002, 78p.

IBGE (2022). Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/maracuja/al>. Acesso em: 10/2023

KUMAR, P., AHLAWAT, S., CHAUHAN, R.; KUMAR, A.; SINGH, R.; KUMAR, A. *In vitro* and field efficacy of fungicides against sheath blight of rice and post-harvest fungicide residue in soil, husk, and brown rice using gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Environ Monit Assess**, v.190, n.503, 2018.

LIMA, N. B.; LIMA, W.G.; TOVAR-PEDRAZA, J.M.; MICHEREFF, S.J.; CÂMARA, M.P.S. Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 141, n. 4, p. 679-688, 2015.

MACIEL, J.L.N.; CHAVES, M.S. (2007). PAINEL TÉCNICO: FUNGICIDAS TRIAZÓIS NO CONTROLE DA FERRUGEM DA FOLHA DO TRIGO: Desempenho do princípio ativo tebuconazole no controle da ferrugem da folha do trigo. Disponível Em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/186606/1/CNPT-ID41532.pdf>. Acesso: 12/2023

MUNIR, M.; AMSDEN, B.; DIXON, E.; VAILLANCOURT, L.; GAUTHIER, N. A. W. Characterization of *Colletotrichum* Species Causing Bitter Rot of Apple in Kentucky Orchards. **Plant Disease**, v. 100, p. 2194–2203, 2016.

REBELLO, C.S.; BAGGIO, J.S.; FORCELINI, B.B.; PERES, N.A. S. Sensibilidade do Complexo de Espécies *Colletotrichum acutatum* de Morango a Fungicida Alternativas a Inibidores Externos de Quinona. **Plant disease**, v.106, n. 8, p. 2053-2059, 2022.

SÃO JOSÉ, A.R. **Controle fitossanitário do maracujá**. 2015. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/controle-fitossanitario-do-maracuja/>

SCHOENEBERG, A.; HU, M. Efficacy evaluation of demethylation inhibitors and mixtures against *Colletotrichum* spp. causing strawberry anthracnose. **J Plant Pathol**, v. 104, p. 1483–1489, 2022.

SCORE. **Fungicida score**. 2022. Disponível em:

https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtney466/files/media/document/2022/05/06/score_1.pdf. Acesso: 05/2023

SHI, N.N.; RUAN, H.C.; JIE, Y.L.; CHEN, F.R. Characterization, fungicide sensitivity and efficacy of *Colletotrichum* spp. from chili in Fujian, China. **Crop Protection**, v. 143, 2021.

SILVA, J.L.; LOPES, L.E.M.; SILVA-CABRAL, J.R.; COSTA, J.F.O.; LIMA, G.S.A.; ASSUNÇÃO, I.P. *Colletotrichum* species associated with anthracnose in passion fruit in Brazil. **Diversitas Journal**, v. 7, n. 3, p. 1205-1224, 2022.

SILVA, J.L.; SILVA, W.F.; LOPES, L.E.M.; SILVA, M.J.S.; SILVA-CABRAL, J.R.A.; COSTA, J.F.O.; LIMA, G.S.A.; ASSUNÇÃO, I.P. First Report of *Colletotrichum tropicale* Causing Anthracnose on *Passiflora edulis* in Brazil. **Plant disease**, v.105, n.11, p. 3761, 2021.

TOZZE JÚNIOR, H. J.; FISCHER, I. H.; CÂMARA, B. M. P. S.; MASSOLA JÚNIOR, N. S. First report of *Colletotrichum boninense* infecting yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) in Brazil. **Plant Disease Notes**, v.5, p.70–72, 2010.

WANG, N; CHI, F.; JI, Z.; ZHOU, Z.; ZHANG, J. First Report of Passion Fruit Anthracnose Caused by *Colletotrichum constrictum*. **Plant disease**, v.105, n. 12, p. 4158, 2021.

ZHANG, L.; HUANG, X.; ZHANG, Y.; HU, H.; REN, E. First Report of Anthracnose on *Passiflora edulis* Caused by *Colletotrichum siamense* in Guangdong Province in China. **Plant disease**, v.108, n.8, p. 2258, 2022.

Capítulo II

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTAGÔNICO DE *Trichoderma harzianum* SOBRE AS ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À ANTRACNOSE DO MARACUJAZEIRO

RESUMO

O gênero *Passiflora* é um dos mais expressivo em número de espécies tropicais, onde 150 são nativas do Brasil. Todas as regiões do país são produtoras de maracujá, no entanto, a região nordeste destaca-se pela alta produtividade nacional. Entretanto, um dos principais entraves que contribuem para a redução da produção são problemas fitossanitários como a antracnose, causada por espécies do gênero *Colletotrichum*. O objetivo do trabalho foi avaliar *in vitro* os efeitos de *Trichoderma harzianum* sobre as espécies de *C. plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. tropicale*, *C. theobromicola* e *C. fructicola*. Para o teste de pareamento, discos de papel filtro foram umedecidos na suspensão de esporos de *Colletotrichum* (2×10^6 conídios/mL) e colocados na borda de placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA – Kasvi) sintético. Após 72 horas o mesmo procedimento foi realizado utilizando o antagonista *T. harzianum*, nas concentrações 0,5; 1,0 e 1,5 L/ha, colocando o disco de papel umedecido na direção oposta aos fitopatógenos. A testemunha foi composta apenas da placa com os fitopatógenos. Para avaliação da ação de metabólitos, plugs contendo estruturas de cada espécie de *Colletotrichum* foram colocados no centro de placas de Petri, separadamente. Após 48 horas, foram colocados plugs de *T. harzianum* em placas contendo meio BDA sintético. As bases das placas contendo antagonista e os fitopatógeno foram sobrepostas, unidas e vedadas. Para testemunha, foi sobreposta uma base contendo um disco de micélio contendo as estruturas dos fitopatógeno e a outra contendo apenas um disco de meio de cultura BDA. As placas foram incubadas durante sete dias a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas e mensuradas diariamente durante sete dias. Para verificar a diferença entre os tratamentos foram estimados o índice de crescimento micelial (IVCM) e a porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC). Ao avaliar o antagonismo de *T. harzianum* sobre *Colletotrichum* spp. no teste de pareamento e metabólitos voláteis, observou-se que todas as espécies de *Colletotrichum* apresentaram PIC abaixo de 31%, em ambos os testes. No IVCM para o teste de pareamento, observa-se que *C. tropicale* foi a espécie mais sensível (1,87 cm) nas concentrações de 1 e 1,5 L/ha, enquanto no teste de metabólitos voláteis foi *C. plurivorum* (3,21 cm). *T. harzianum* é uma espécie promissora para a redução de *Colletotrichum* spp., associadas a antracnose na cultura do maracujazeiro.

Palavras-chave: Biocontrole; Fungicidas biológicos; *Passiflora*.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais países produtores de alimentos no mundo. Devido a adoção de tecnologias, a produtividade vem aumentando e o manejo da terra agricultável está sendo otimizado (IBGE, 2022). Dentre as culturas de importância econômica destaca-se o maracujazeiro, principalmente por ter grande retorno econômico, além de desempenhar um papel socioeconômico de grande relevância para pequeno e médio produtor (MELETTI, 2011; EMBRAPA, 2023).

A produção nacional da cultura do maracujazeiro apresenta alguns entraves, como os problemas fitossanitários causados por fitopatógenos (SÃO JOSÉ, 2015), sendo os fungos considerados um dos principais agentes associados, principalmente, aqueles que causam a doença antracnose (DEAN et al., 2012). Nos últimos anos, observa-se uma busca pela diversificação de ferramentas no manejo integrado de doenças e produtos de qualidade (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018; MEYER; MAZARO; SILVA, 2019).

A constante preocupação da sociedade com a contaminação alimentar e problemas ambientais, além de diversas barreiras no mercado de exportação pelo uso de moléculas químicas abriu segmentos no mercado para o uso de novas formas de controle, como por exemplo, o manejo biológico (MORANDI; BETTIOL; PAULO JÚNIOR, 2014). Segundo a ABCBio (2021) a indústria de biocontrole está crescendo 5,3 vezes mais rápido do que a indústria de defensivos químicos. O MAPA (2021) registrou um recorde de 95 defensivos de baixo impacto. Desses, quinze defensivos são compostos por espécies do gênero *Trichoderma*. Um levantamento realizado por Bettiol et al. (2012), de produtos recomendados para o uso no controle biológico, foi possível observar que mais de 40 espécies antagonistas eram utilizadas para o controle de doenças, sendo este gênero responsável por quase 50%.

Vários produtos à base de *Trichoderma* são liberados, no entanto, a espécie *T. harzianum* é a mais comercializada, com cerca de 38,8% dos produtos sem mistura, chegando a 50% dos produtos disponíveis no mercado. Quando há mistura de espécies de *Trichoderma*, juntamente com outros gêneros de fungos, bactérias e micorrizas essa porcentagem aumenta, chegando a 60% dos produtos para controle biológico liberados mundialmente (BETTIOL et al., 2019).

O uso do *Trichoderma* para controle de doenças tem sido estudado há anos e vem obtendo sucesso na pesquisa e na indústria. Ferreira et al. (2020) avaliaram o potencial de cinco isolados de *Trichoderma* nativos nas árvores de citros e constatou-se que o isolado identificado como *T. harzianum* (IC-30) reduziu, *in vitro*, o percentual de podridões causados por *Penicillium digitatum*, *Alternaria alternata* e *Colletotrichum gloeosporioides* na cultura do citros. Es-Soufi et al. (2020) avaliaram a atividade antagonista *in vitro* de *T. harzianum* sobre diversos isolados de *C. acutatum*, agente causal da antracnose em morangueiro, observaram que houve inibição do crescimento micelial dos isolados quando utilizou o método de pareamento e compostos voláteis.

Tendo em vista os resultados satisfatórios no controle de diversos fitopatógenos que causam doenças em culturas de importância econômica, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* o efeito antagonista de *Trichoderma harzianum* como biocontrole de *Colletotrichum* spp. associadas à antracnose do maracujazeiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento, obtenção das espécies de *Colletotrichum*

O trabalho foi realizado no *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas – Rio Largo/AL. Os experimentos foram conduzidos na clínica fitossanitária.

Isolados representativos de cinco espécies de *Colletotrichum*, provenientes da doença antracnose na cultura do maracujazeiro, foram obtidos da Coleção de Fitopatógenos da Universidade Federal de Alagoas – COUFAL. Os isolados foram caracterizados por Inferência Bayseana baseados em análises multi-locus utilizando os genes 70 liceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (*GAPDH*), quitina sintetase (*CHS-1*), β – tubulina (*TUB2*) e região do espaço interno transcrito (ITS) por Silva et al., 2022 e suas sequências parciais foram depositadas no GenBank, com os códigos descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Isolados de *Colletotrichum*.

ESPÉCIES	CÓDIGOS	Números de acesso do GenBank			
		<i>GAPDH</i>	<i>ITS</i>	<i>TUB2</i>	<i>CHS-1</i>
<i>C. brevisporum</i>	*COUFAL0271	MT299329	MT334686	MT310545	MT314425
<i>C. plurivorum</i>	COUFAL0275	MT299333	MT334689	MT310548	-
<i>C. fructicola</i>	COUFAL0279	MT299337	MT334692	MT310551	-
<i>C. theobromicola</i>	COUFAL0280	MT299338	MT334693	MT310552	-
<i>C. tropicale</i>	COUFAL0282	MT299340	MT334695	MT310554	-

* COUFAL: Coleção de fitopatógenos da Universidade Federal de Alagoas.

2.2. Comparação do crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum* e *Trichoderma harzianum*

Foram avaliados o crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum* e do *T. harzianum*, obtido da diluição do produto comercial Trichodermil SC 1306/KOPPERT, nas concentrações 0,5; 1,0; e 1,5 L/ha, recomendadas pelo fabricante para a podridão da haste da soja (*Sclerotinia sclerotiorum*) e Podridão-abacaxi (*Thielaviopsis paradoxa*). Para as espécies de *Colletotrichum*, foram feitas suspensões de esporos, onde as mesmas foram calibradas com o auxílio da câmara de Neubauer para a concentração de 2×10^6 conídios/mL. Para isto, discos

de papel filtro (Ø 5 mm) esterilizados foram mergulhados, por 30 segundos, nas suspensões de esporos de *Colletotrichum* e *T. harzianum*, posteriormente, depositados separadamente no centro das placas de Petri (9 cm Ø), contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA – Kasvi) sintético. As placas foram transferidas para uma câmara do tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*), a temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco espécies de *Colletotrichum* e o *T. harzianum*, cinco repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa de Petri.

As avaliações foram obtidas a partir da medição diária, do diâmetro das colônias (cm/dia) tomadas no verso das placas em duas direções perpendiculares, com o auxílio de uma régua milimetrada.

2.3. Antagonismo *in vitro* de *T. harzianum* sobre espécies de *Colletotrichum* por pareamento.

As avaliações da atividade antagonica de *T. harzianum* sobre o crescimento *in vitro* de espécies de *Colletotrichum* foram realizadas de acordo com a metodologia de pareamento de culturas proposta por Dennis & Webster (1971), utilizando as concentrações 0,5; 1,0; 1,5 L/ha e a testemunha. Inicialmente, foram cultivadas espécies de *Colletotrichum* e o *T. harzianum*, separadamente, em placas de Petri contendo meio de cultura BDA sintético e incubados em B.O.D., a temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 h, por sete dias, para obtenção das suspensões de conídios. As suspensões de conídios das espécies de *Colletotrichum* foram coletadas raspando a superfície das colônias com bisturi estéril em 10 ml de ADE e filtradas em camadas de gaze, para remover quaisquer detritos miceliais.

Os esporos foram contados em hemocitômetro e a contagem de esporos ajustada para 2×10^6 conídios/mL. Posteriormente, discos de papel filtro (Ø 5 mm) esterilizados foram umedecidos em suspensão de conídios das espécies de *Colletotrichum*, por 30 segundos, secos em papel filtro e transferidos para a extremidade de placas de Petri, contendo meio BDA sintético e incubadas em B.O.D., a temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 h, por 72 horas. Após este período, discos de papel filtro foram umedecidos nas diferentes concentrações de *T. harzianum* e, posteriormente, depositados na extremidade oposta das placas que foram inoculadas anteriormente com as espécies de *Colletotrichum*, exceto a testemunha, que se

manteve apenas o patógeno ou o antagonista em uma das extremidades da placa. As placas foram vedadas novamente e transferidas para câmara de incubação (B.O.D.), a 25 °C com fotoperíodo de 12 h, onde permaneceram por 7 dias, contados a partir da primeira inoculação do patógeno.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial, com cinco repetições, constituídas por uma placa de Petri, sendo cinco espécies de *Colletotrichum* e as concentrações de *T. harzianum*.

As avaliações foram obtidas a partir da medição diária, do diâmetro das colônias (*Colletotrichum* spp. e *T. harzianum*) tomadas no verso das placas em duas direções perpendiculares, com o auxílio de uma régua milimetrada, até o sétimo dia. O índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM; OLIVEIRA, 1991) e o cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC; BASTOS, 1997) foram determinadas de acordo com as fórmulas (1) e (2), respectivamente.

$$\boxed{1} \quad IVCM = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \frac{C_n}{N_n}$$

Onde: C₁, C₂ e C_n correspondem ao crescimento micelial na primeira, segunda e última avaliação; e N₁, N₂ e N_n correspondem ao número de dias após a inoculação.

$$\boxed{2} \quad PIC = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento}) \times 100}{\text{Crescimento da testemunha}}$$

A escala proposta por Bell et al. (1982) foi usada para a avaliação, esta, por sua vez, atribui classes que variam de 1 a 5. Nota 1 = Quando o antagonista cresce e ocupa toda a placa; nota 2 = Quando o antagonista cresce sobre parte do patógeno (2/3 da placa); nota 3 = Quando o antagonista e patógeno crescem até a metade da placa (nenhum domina o outro); nota 4 = O patógeno cresce e ocupa uma parte do antagonista (2/3 da placa); e nota 5 = O patógeno cresce e ocupa toda a placa.

2.4. Ação de metabólitos voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento micelial *Colletotrichum* spp.

Para avaliação do potencial inibidor de metabólitos voláteis produzido por *T. harzianum* sobre *Colletotrichum* spp. foi realizado um teste adaptado da metodologia descrita por Bomfim et al. (2010). Foram depositados disco de micélio (5 mm) dos fitopatógenos *C. brevisporum*, *C. plurivorum*, *C. tropicale*, *C. theobromicola* e *C. fructicola*, separadamente, no centro das placas de Petri (90 mm de diâmetro), contendo meio de cultura BDA sintético. As placas foram vedadas e mantidas por 48 h em B.O.D., a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h. Após esse período inicial de incubação foi transferido um disco de micélio de *T. harzianum* no centro de novas placas de Petri, com as mesmas dimensões e contendo meio de cultura BDA sintético. Posteriormente, as bases das placas contendo o antagonista e o patógeno foram sobrepostas, unidas e vedadas. Para testemunha foram utilizados fundos de placas de Petri contendo meio de cultura BDA, onde foi adicionado ao centro da placa um disco de micélio contendo as estruturas dos patógenos, separadamente, e no outro fundo apenas disco de meio BDA sintético sobre o meio de cultura, posteriormente, as placas foram sobrepostas e vedadas, mantidas em câmara de incubação sob a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 h, por sete dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial, com cinco repetições, constituídas por uma placa de Petri, sendo cinco espécies de *Colletotrichum* e o *T. harzianum*. As avaliações foram obtidas a partir da medição diária, do diâmetro das colônias (*Colletotrichum* spp. e *T. harzianum*), tomadas no verso das placas em duas direções perpendiculares, com o auxílio de uma régua milimetrada, até o sétimo dia.

O cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC; BASTOS, 1997) e índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM; OLIVEIRA, 1991) foram determinadas de acordo com as fórmulas descritas no experimento anterior.

2.5. Análise dos dados

Os resultados dos experimentos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey, utilizando o programa estatístico Assistat (SILVA; AZEVEDO, 2016).

3. RESULTADOS

3.1. Comparação do crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum* e *Trichoderma harzianum*

Observou-se que houve uniformidade no crescimento micelial do antagonista (*T. harzianum* – Cepa **ESALQ 1306**), em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 1,5 L/ha), enquanto, as espécies de *Colletotrichum* (*C. plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. tropicale*, *C. theobromicola* e *C. fructicola*) apresentaram crescimento micelial inferior, quando analisados ao quarto dia, tempo necessário para o antagonista crescer totalmente sobre a superfície do meio de cultura BDA (Figura 1).

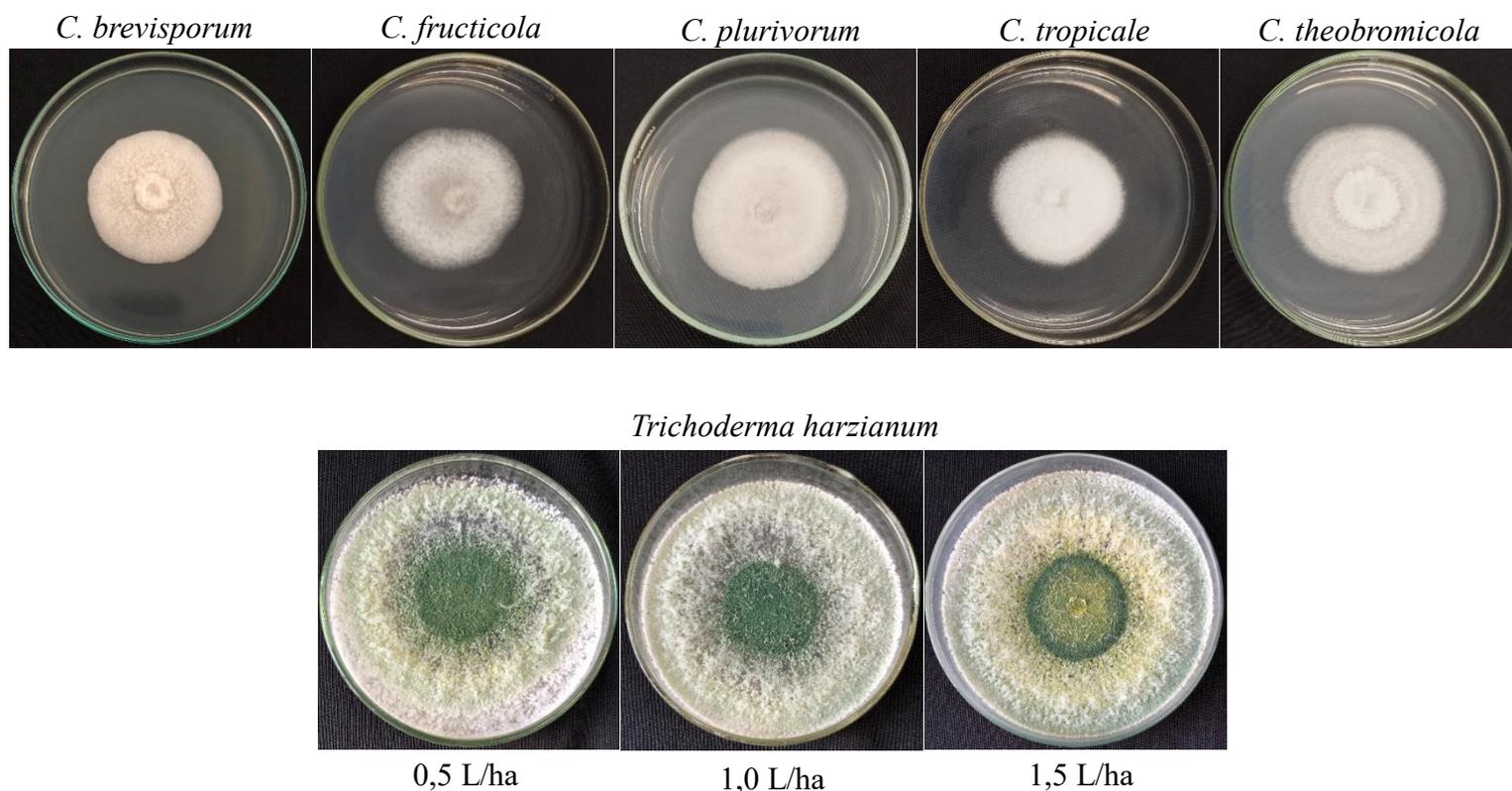


Figura 1: Crescimento micelial de *Trichoderma harzianum* e *Colletotrichum* spp, ao quarto dia.

Na avaliação do índice de crescimento micelial, ao quarto dia de incubação, constatou-se que o antagonista, *T. harzianum* apresentou diâmetro da colônia de 8,5 cm, nas três concentrações. No mesmo período de avaliação, as espécies de *Colletotrichum* apresentaram

comportamento diferenciado, onde o IVCm para *C. plurivorum* foi de 5,0 cm, *C. theobromicola* (4,6 cm), *C. brevisporum* (4,5 cm), *C. tropicale* (4,0 cm) e *C. fructicola* de 3,6 cm (Figura 2).

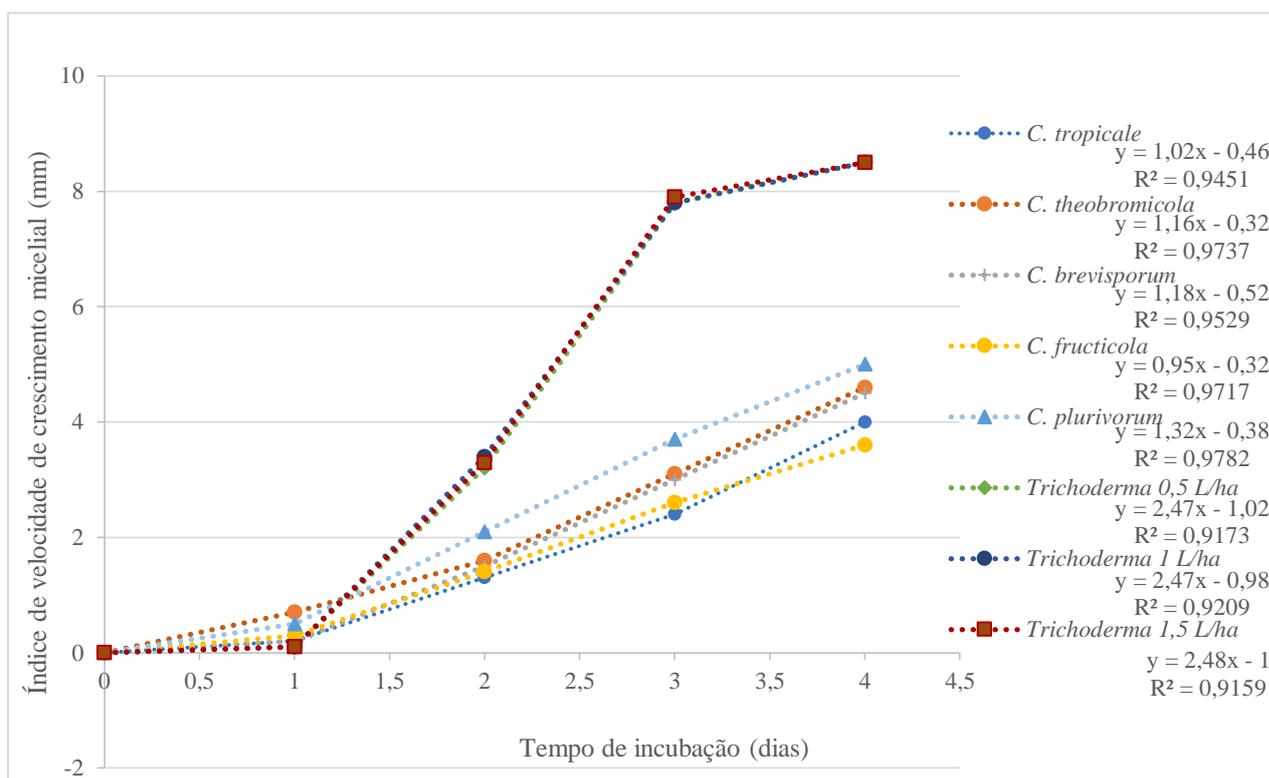


Figura 2: Análise de regressão do índice de velocidade de crescimento micelial do *Trichoderma harzianum* e das espécies de *Colletotrichum*.

3.2. Antagonismo *in vitro* de *T. harzianum* sobre espécies de *Colletotrichum* por pareamento.

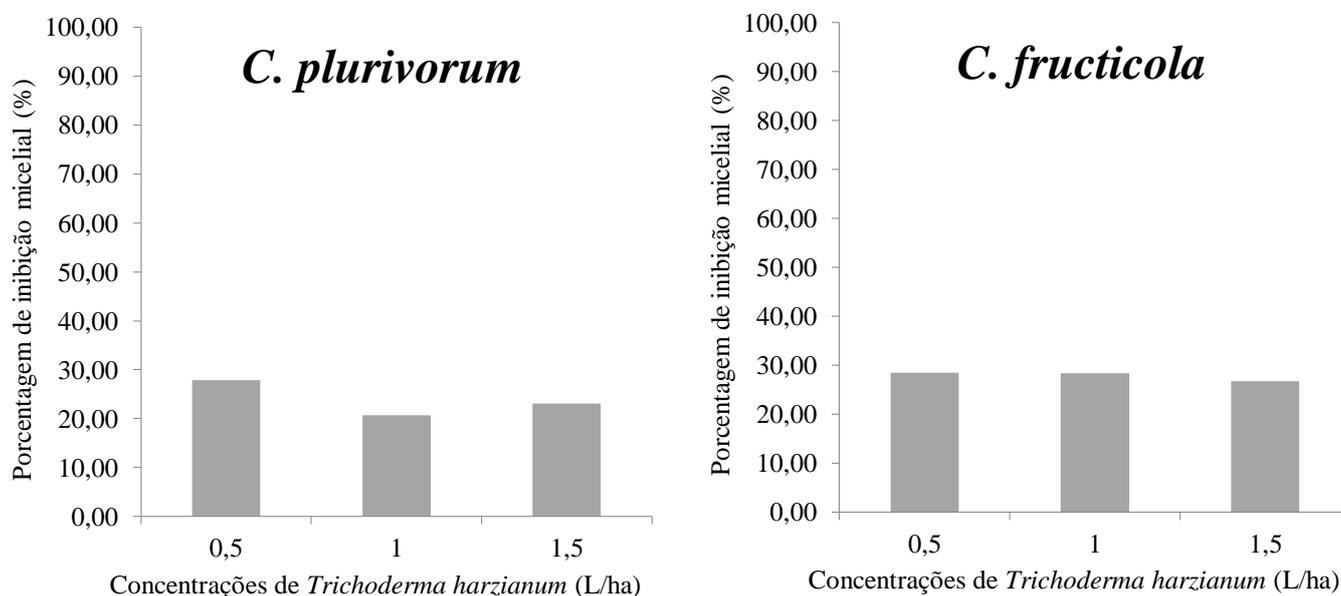
Analisando o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) das cinco espécies de *Colletotrichum*, aos sete dias, sem a presença do antagonista, observou-se que não houve diferença significativa entre as espécies *C. plurivorum* (2,0 cm), *C. fructicola* (1,93 cm), *C. tropicale* (2,02 cm) e *C. brevisporum* (2,16 cm), exceto, *C. theobromicola* que apresentou 2,49 cm, quando os discos de papel contendo as suspensões dos patógenos foram adicionados nas extremidade de placas de Petri, contendo meio BDA sintético (Tabela 2).

As espécies *C. plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. fructicola* e *C. tropicale* se comportaram de forma similar em relação ao IVCm, não deferindo significativamente nas três concentrações do antagonista (0,5; 1,0; 1,5 L/ha) e testemunhas. No entanto, apenas *C. theobromicola* apresentou comportamento diferenciado em relação as demais, em todas as concentrações,

tendo seu maior índice de velocidade de crescimento micelial (2,67 cm), na concentração 1,5 L/ha (Tabela 2).

Na porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC), as espécies de *Colletotrichum* apresentaram valores distintas frente ao *T. harzianum* nas concentrações 0,5; 1,0; e 1,5 L/ha, exceto a espécie *C. fructicola*, que apresentou a maior PIC nas concentrações de 0,5 L/ha (28,47%) e 1,0 L/ha (28,31%), quando comparada as demais espécies, não diferindo estatisticamente entre elas. No entanto, as espécies *C. plurivorum* e *C. brevisporum* apresentaram comportamento semelhantes estatisticamente, quando submetidas as concentrações 1,0 e 1,5 L/ha e as espécies *C. tropicale* e *C. theobromicola* quando utilizou as doses 0,5 e 1,0 L/ha. Observa-se ainda que a espécie *C. brevisporum* apresentou a menor PIC (14,64 %) e *C. fructicola* a maior PIC (28,47 %), entre as espécies e concentrações testadas (Tabela 2).

O gráfico mostra que à medida que aumentavam as concentrações de *T. harzianum*, também aumentava a porcentagem de inibição do crescimento micelial para a espécie *C. tropicale*. As espécies *C. theobromicola* e *C. brevisporum* apresentaram comportamento semelhante em todas as concentrações testada, no entanto, a maior porcentagem de inibição foi obtida na concentração de 1,0 L/ha com valores de 23,17 e 23,43 %, respectivamente. De forma geral, *C. fructicola* foi a espécie mais sensível quando submetida ao confronto com o antagonista, apresentando uma melhor resposta na concentração 0,5 L/ha, com 28,47 % de inibição. A espécie menos sensível ao antagonista foi *C. brevisporum* (14,64 L/ha) na concentração 0,5 L/ha. No entanto, todas as espécies de *Colletotrichum* apresentaram PIC inferior a 30 % (Figura 3; Tabela 2).



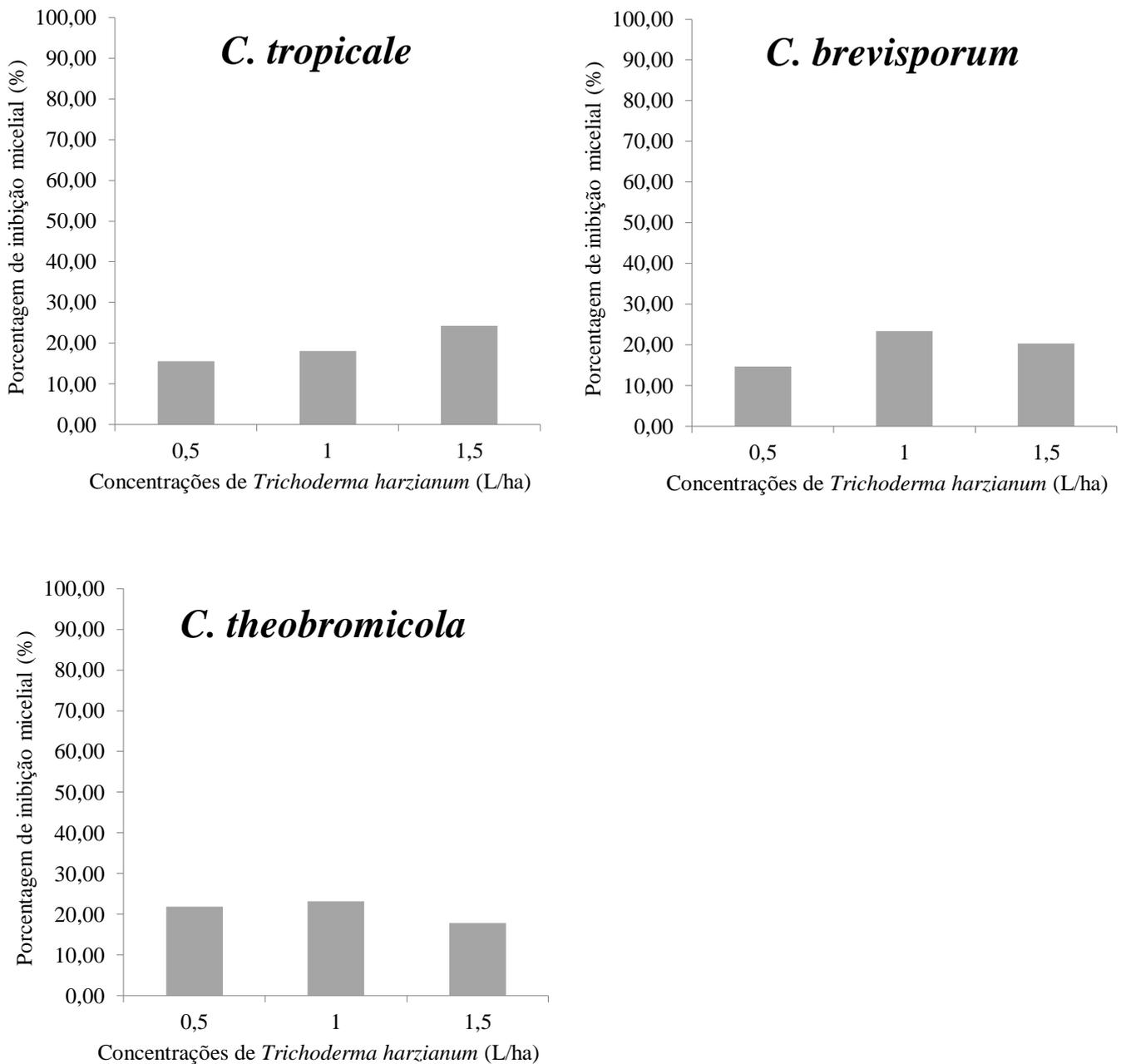


Figura 3: Porcentagem de inibição micelial (PIC) das espécies de *Colletotrichum* utilizando *Trichoderma harzianum*, aos 7 dias.

Verificou-se que não houve diferença entre as espécies *C. plurivorum*, *C. fructicola*, *C. tropicale* e *C. brevisporum* quando avaliadas com a escala de notas proposta por Bell et al. (1982), sendo atribuída nota 2 (2/3 da placa ocupado pelo antagonista), tanto no sétimo quanto no décimo dia. Já a espécie *C. theobromicola* recebeu nota 3, aos 7 e 10 dias, indicando que tanto o antagonista como o patógeno cresceram 50% da placa cada e um não parece dominar o outro, nas concentrações 0,5; 1,0 e 1,5 L/ha (Tabela 2; Figura 4).

Tabela 2: Médias da inibição de velocidade de crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento micelial nas distintas concentrações de *Trichoderma harzianum* no controle de *Colletotrichum* spp.

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey.

Espécies de <i>Colletotrichum</i>	CONCENTRAÇÕES (L/ha)							Escala de Bell	
	IVCM (cm) (Interação E x C)				PIC (%) (Interação E x C)			7 (dias)	10 (dias)
	Testemunha	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5		
<i>C. plurivorum</i>	2,00 bA	2,01 bA	2,12 bA	2,19 bA	27,83 aA	20,68 bcB	23,07 abB	2	2
<i>C. fructicola</i>	1,93 bA	1,99 bA	1,98 bA	2,16 bA	28,47 aA	28,31 aA	26,77 aA	2	2
<i>C. tropicale</i>	2,02 bA	2,03 bA	1,87 bA	1,87 cA	15,59 dB	18,03 cB	24,28 abA	2	2
<i>C. brevisporum</i>	2,16 bA	1,95 bA	2,02 bA	2,01 bcA	14,64 cB	23,43 bA	20,37 bcA	2	2
<i>C. theobromicola</i>	2,49 aA	2,45 aA	2,62 aA	2,67 aA	21,91 bA	23,17 bA	17,90 cB	3	3
Espécies (E)	61.8924 **				31.9559 **				
Concentrações (C)	1.8821 ns				1.1993 ns				
Interação E x C	2.3971 *				12.3670 **				
CV (%)	6,60				11,07				

(**) Significativo a 1% de probabilidade ($p < .01$).

(*) significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$).

(ns) não significativo ($p \geq .05$)

CV= Coeficiente de variação.

Testemunhas
Colletotrichum spp.

0,5

1,0

1,5

79

C. brevisporum

7 dias

10 dias

C. plurivorum

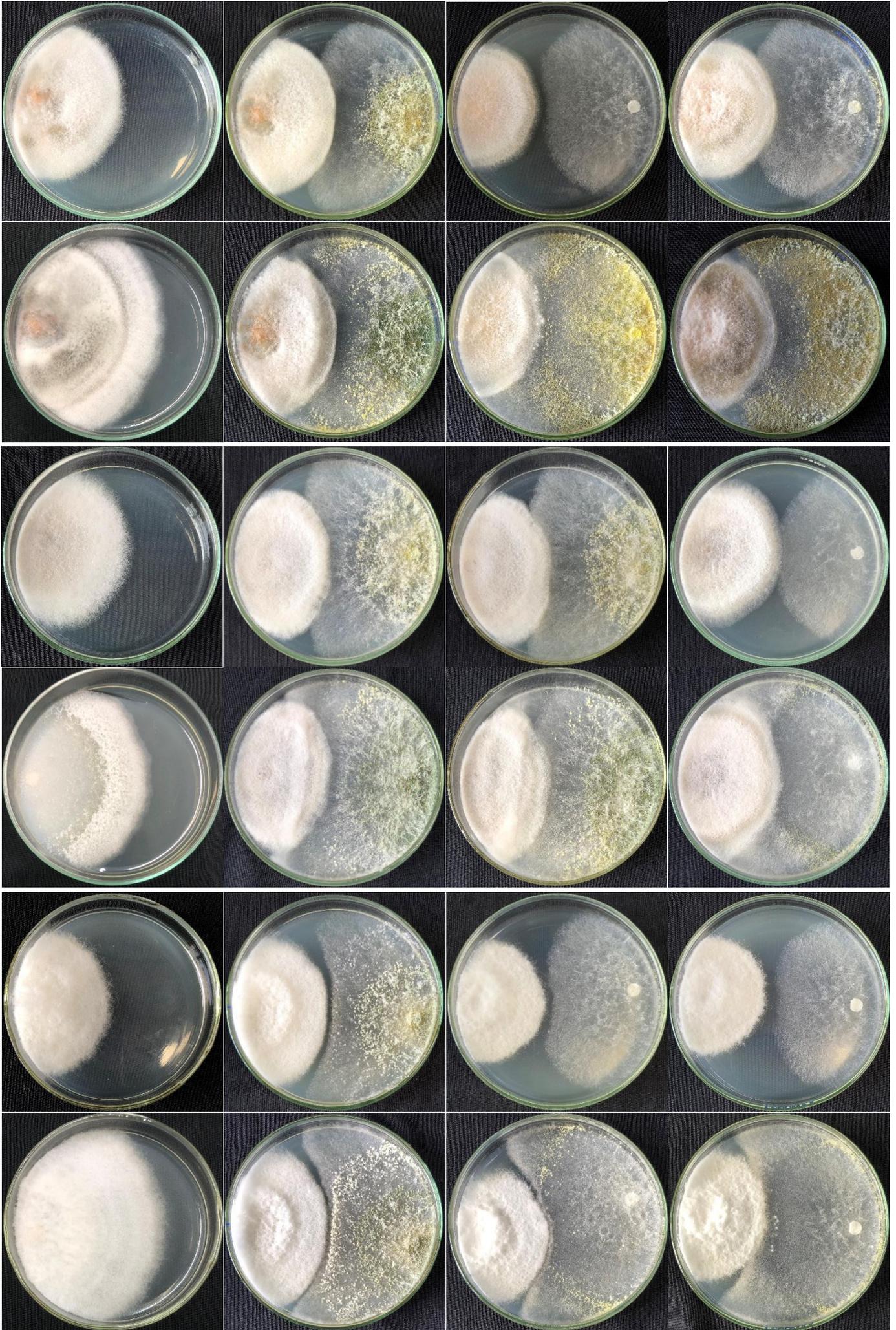
7 dias

10 dias

C. tropicale

7 dias

10 dias



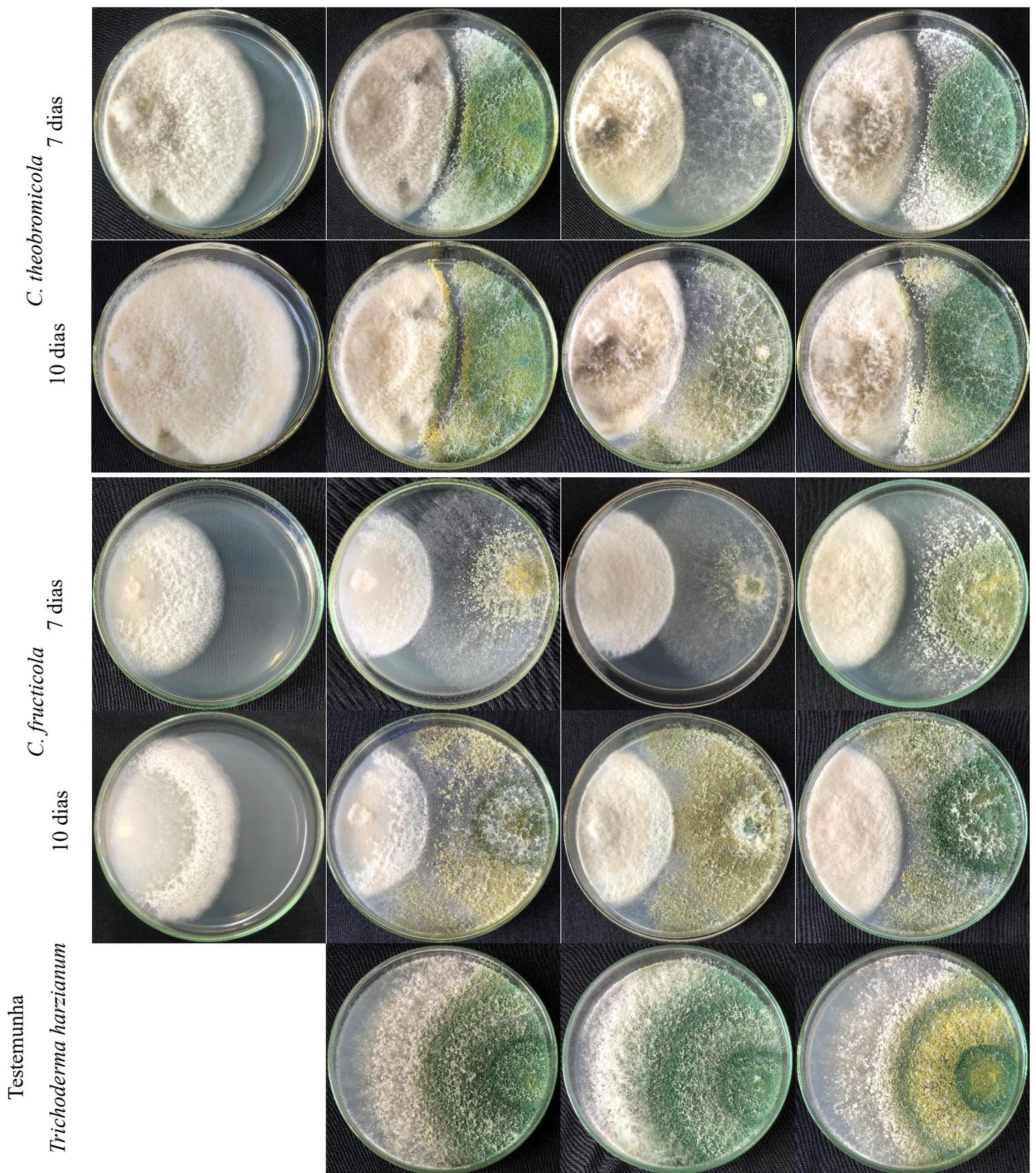


Figura 4: Teste de pareamento utilizando *Trichoderma harzianum* e *Colletotrichum* spp.

3.3. Ação de metabólitos voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre *Colletotrichum*

Avaliando o IVCm observou-se que a produção de metabólitos voláteis do antagonista, *T. harzianum*, mostrou-se significativamente eficiente, no controle de *Colletotrichum* spp., quando comparado com as suas respectivas testemunhas. A espécie *C. theobromicola* obteve o maior crescimento micelial (4,03 cm) em relação as demais espécies, enquanto, *C. plurivorum* foi mais sensível com 3,21 cm (Tabela 3; Figura 5).

Na avaliação da PIC, a espécie *C. tropicale* obteve a maior porcentagem de inibição do crescimento micelial (30,59%), diferindo estatisticamente das demais, sendo está a mais sensível a ação de metabólitos produzidas por *T. harzianum*, seguidas por *C. plurivorum* (23,56%) e *C. brevisporum* (23,14%) que tiveram comportamento semelhante. As espécies *C. theobromicola* e *C. fruticola* obtiveram as menores PICs como 22,41 e 19,02%, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3: Índice de velocidade de crescimento micelial e porcentual de inibição micelial *in vitro* de *Colletotrichum* spp. no teste de metabólitos voláteis com *Trichoderma harzianum*.

Espécies de <i>Colletotrichum</i>	IVCM (cm) (<i>Colletotrichum</i> spp.)	IVCM (cm) (Interação E x T)	PIC (%) (Interação E x T)
<i>C. plurivorum</i>	3,73 bA	3,21 cB	23,56 ab
<i>C. fruticola</i>	3,91 bA	3,56 bcB	19,02 b
<i>C. tropicale</i>	4,72 aA	3,61 bB	30,59 a
<i>C. brevisporum</i>	4,58 aA	3,92 abB	23,14 ab
<i>C. theobromicola</i>	4,69 aA	4,03 aB	22,41 b
Espécies (E)	32.0301 **		
Tratamento (T)	120.8450 **		5.1740 **
Interação E x T	4.5004 **		
CV (%)	5,28		17,49

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey.

(**) Significativo a 1% de probabilidade ($p < .01$).

CV= Coeficiente de variação.

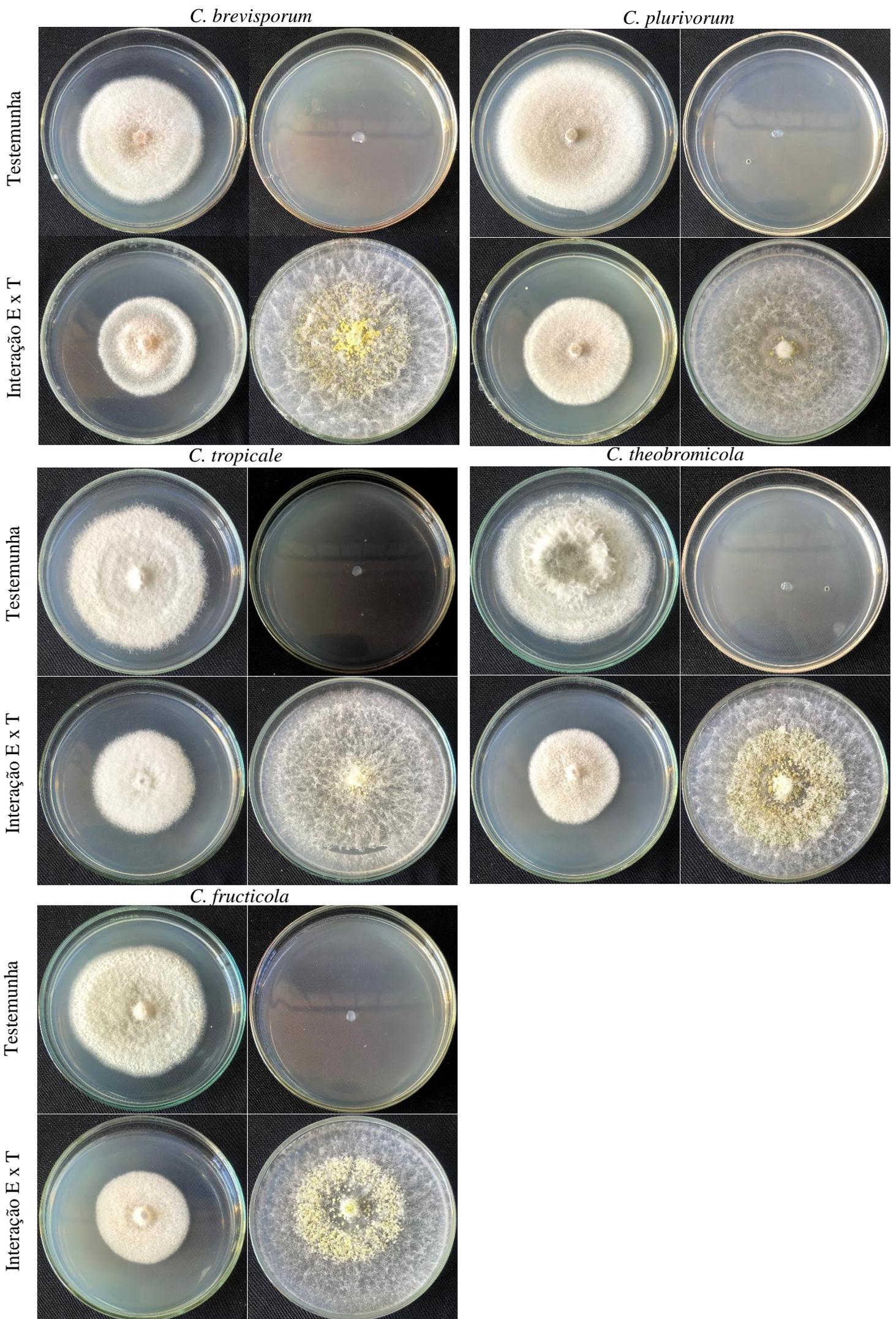


Figura 5: Teste de metabólitos voláteis utilizando *Trichoderma harzianum* no controle de *Colletotrichum* spp.

4. DISCUSSÃO

A busca por estratégias de manejo eficazes vem crescendo ativamente nos últimos anos, tendo como exemplo o controle biológico. Acredita-se que esse resultado seja reflexo da procura do agricultor por tecnologias para melhorar a produtividade, principalmente, no controle de fitopatógenos (BETTIOL; SILVA; CASTRO, 2019). Dentro do controle biológico destacam-se as espécies do gênero *Trichoderma*, que vem alavancando o manejo de doenças de plantas no Brasil (MORANDI et al., 2009; HERMOSA et al., 2014; MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019). Alguns autores relatam as vantagens do *T. harzianum*, quanto a competição por espaço e nutrientes, devido ao seu rápido crescimento micelial, no controle de fitopatógenos (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018; MEYER; MAZARO; SILVA, 2019; QUEVEDO et al., 2022).

Neste estudo, foi observada a atividade antifúngica do produto comercial Trichodermil SC 1306/KOPPERT (*Trichoderma harzianum*) contra o fungo fitopatogênico *Colletotrichum* spp., provenientes da doença antracnose na cultura do maracujazeiro. Observou-se que o crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum* e do antagonista *T. harzianum* é o mesmo com base no tempo inicial, mas não é o mesmo no final da observação quando cultivado em meio de cultura BDA. Isso mostrou que o antagonista apresenta uma vantagem no crescimento em relação as espécies de *Colletotrichum*; acredita-se que esse fato ocorreu devido à alta capacidade do *Trichoderma* em colonizar substratos com diferentes características (MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019). Além disso, cepas de *Trichoderma* isoladas com potencial de biocontrole de fitopatógenos tem sido obtida de ambientes que apresentam altas temperaturas, solos salinos ou alcalinos e sob condições de baixa umidade, com isso, favorece a sobrevivência em ambientes com diferentes condições (MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019). Quevedo et al. (2022) afirma que uma característica desejável é o antagonista apresentar crescimento micelial mais rápido que o patógeno, pois se ambos competirem por espaço e nutrientes a tendência é do microrganismo que apresenta desenvolvimento mais rápido ter vantagem sobre o de crescimento mais lento.

No teste de pareamento observa-se macroscopicamente um evidente antagonismo do *T. harzianum* contra as espécies de *Colletotrichum*. Esse mecanismo deve-se, possivelmente, à competição por nutrientes e espaço presentes no meio de cultura, bem como o micoparasitismo, que apresenta uma ação direta sobre o fitopatógeno, por meio da infecção (penetração e colonização), degradação enzimática e o consumo dos nutrientes presentes nas hifas dos fungos

(SUASSUNA; SILVA; BETTIOL, 2019). De acordo com Bell et al. (1982), espécies do gênero *Trichoderma* conseguem localizar hifas de fungos suscetíveis, crescendo em sua direção, isto pode ocorrer devido a estímulos químicos produzidos pelo micélio do hospedeiro.

Nossos estudos são análogos com várias pesquisas do controle biológico de agentes patogênicos de plantas que apresentam resultados promissores para eficácia do antagonista *Trichoderma* spp. como meio de controlar fitopatógenos utilizando a técnica de confronto, como por exemplo, no trabalho de Quevedo et al., (2022), onde utilizaram a técnica de pareamento de culturas, para avaliar a ação antagonista *in vitro* de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium oxysporum*, verificando que a espécie *T. harzianum* apresentou uma porcentagem de inibição de 14,24%, ficando próximo dos resultados encontrados neste trabalho.

Os resultados obtidos por Grano-Malldonado et al. (2021) mostraram que as espécies de *C. ti* e *C. queenslandicum* apresentaram um percentual de inibição micelial em torno de 70%. Resultado semelhante foram observados por Sutarman et al. (2020) ao testar o antagonismo de *T. harzianum* em relação a *C. gloeosporioides* (65%) e *C. capsicum* (64,2%), patógenos associados a antracnose do pimentão (*Capsicum annuum*). Teja et al. (2020) também testaram o potencial de *Trichoderma* spp. em relação ao *C. graminicola*, agente causal da antracnose do sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e observaram que o maior percentual de inibição foi obtido pela espécie *T. harzianum*, com 50,8%. Ahmed e El-Fiki, (2017) relataram a capacidade de espécies de *Trichoderma* spp. em micoparasitar hifas de *Colletotrichum* spp., isolados de morangueiro, *in vitro*. Segundo Druzhinina et al. (2011) a eficácia na porcentagem de inibição micelial da ação do *Trichoderma* sobre os fitopatógenos depende de uma série de fatores que agem coordenadamente, dentre eles destacam-se as espécies de *Trichoderma* e o fungo fitopatogênico.

Adicionalmente ao teste de pareamento foi utilizada a escala de notas proposta por Bell et al. (1982), onde nossos resultados corroboram com os encontrados por Quevedo et al. (2022), Morales-Mora et al., (2020) e Costa et al. (2019). Diante das respostas obtidas usando a escala de notas, o produto comercial Trichodermil SC 1306/KOPPERT apresenta potencial de biocontrole para pelo menos quatro espécies de *Colletotrichum*. De acordo com o fabricante o produto apresenta modo de ação por meio da competição, parasitismo e metabólitos produzidos pelo *T. harzianum* 1306 (protease, lipase, glucanase e quitinase) que promovem degradação da parede celular de fungos (KOPPERT, 2023). Tijerino et al. (2011) afirmam que os metabólitos produzidos por espécies de *Trichoderma* contribuem com as enzimas degradadoras da parede celular no potencial de controle.

Estudos *in vitro* visando os metabólitos secundários das espécies de *Trichoderma* têm sido alvo de diversas pesquisas, principalmente, no controle de fungos fitopatogênicos de importância econômica (RAMADA; LOPES; ULHOA, 2019). A metodologia utilizada em nossas pesquisas assemelha-se aos trabalhos de alguns autores que mostram espécies de *Trichoderma* atuando diretamente na inibição do crescimento micelial do agente patogênico por ação de metabólitos, como por exemplo, Barbosa et al. (2021) que obtiveram redução no crescimento micelial de *C. musae*, por meio dos metabólitos voláteis liberados por *Trichoderma*, com percentuais de inibição que variaram de 47% a 74%. Lohmann et al. (2022) testaram diferentes espécies de *Trichoderma* no controle de *C. gloeosporioides*, isolado da planta ornamental (*Cassia fistula* L.), por meio de metabólitos voláteis e observaram que a espécie *T. harzianum* destacou-se na inibição do crescimento micelial deste fitopatógeno e atribuem o resultado a antibiose, pois por meio dela o antagonista pode controlar a ação do patógeno, mesmo não estando em contato direto com o mesmo.

Carvalho et al. (2014) afirmam que existe uma variabilidade de resposta na inibição dos fitopatógenos, devido aos diferentes metabolitos ativos, podendo variar entre uma mesma espécie ou gêneros fúngicos. As pesquisas mostram que, em maior ou menor escala, todas as espécies de *Trichoderma* são eficazes parasitas de fungos fitopatogênicos como uma estratégia de nutrição biotrófica (DRUZHININA et al., 2011; BARBOSA et al., 2021; GRANOMALLDONADO et al., 2021; SUTARMAN et al., 2020).

Estudos do controle biológico de agentes patogênicos de plantas apresentam resultados promissores para eficácia do antagonista como meio de controlar fitopatógenos, sendo as pesquisas *in vitro* importantes para auxiliar na seleção de agentes de biocontrole.

5. CONCLUSÃO

O Trichodermil SC 1306/KOPPERT (*Trichoderma harzianum*) apresenta ação antagonista às espécies *C. brevisporum*, *C. plurivorum*, *C. tropicale*, *C. theobromicola* e *C. fructicola* agentes causais da antracnose do maracujazeiro.

REFERÊNCIAS

- ABC Bio – Associação Brasileira das Empresas de controle biológico. Visto em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-tematicas/insumos-agropecuarios/anos-anteriores/panorama-desafios-do-controle-biologico-no-brasil-77.pdf> . Acesso: 09/2023.
- AHMED, M. F. A.; EL-FIKI, I. A. I. Effect of Biological Control of Root Rot Diseases of Strawberry Using *Trichoderma* spp. **Middle East Journal of Applied Sciences**, v. 7, n. 3, p. 482-492, 2017.
- BARBOSA, G.G.; COSTA, F.A.; COSTA, A.C.; ULHOA, C.J. Evaluation of the potential of *Trichoderma* spp. native to the state of Mato Grosso do Sul against the fungus *Colletotrichum musae*. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.3, p.29484-29502, 2021.
- BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelise* outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.3, p.441-3, 1997.
- BELL, D.K.; WELLS, H.D.; MARKHAM, C.R. Antagonismo *in vitro* de espécies de *Trichoderma* contra seis fitopatógenos fúngicos. **Phytopathology**, v.72, n.4, p.379-382, 1982.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J.; CORRÊA, É. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p.
- BETTIOL, W.; PINTO, Z.V.; SILVA, J.C.; FORNER, C.; FARIA, M.R.; PACÍFICO, M.G.; COSTA, L.S.A.S. Produtos comerciais à base de *Trichoderma*. In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. **Trichoderma: Uso na agricultura**. (1ª ed). Embrapa, 2019, 538p.
- BOMFIM, M.P.; JOSÉ, A.R.S.; REBOUÇAS, T.N.H.; ALMEIDA, S.S.; SOUZA, I.V.B.; DIAS, N.O. Antagonic effect *in vitro* and *in vivo* of *Trichoderma* spp. to *Rhizopus stolonifer* in yellow passion fruit. **Summa phytopathol**, v.36, n.1, 2010.
- CARVALHO, D. D. C.; JUNIOR, M.L.; MARTINS, I. INGLIS, P.W.; MELLO, S.C.M. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli by *Trichoderma harzianum* and its use for common bean seed treatment. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, p. 384-391, 2014
- COSTA, K.K.; RUFINO, C.P.B.; MACEDO, P.E.F.; NOGUEIRA, S.R. Antagonism of *Trichoderma* spp. about *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of antracnosis of *Euterpe precatória*. **SAJEBTT**, v.6, n.1, p. 391-397, 2019.
- DEAN, R.; VAN KAN, J. A. L.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E.; DI PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.;

FOSTER, G. D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* III. Hyphal interactions. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, p. 359-363, 1971.

DRUZHININA, I.S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B.A.; KENERLEY, C.M.; MONTE, H.; MUKHERJEE, P.K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I.V.; KUBICEK, C.P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*, v.9, p. 749–759, 2011.

EMBRAPA. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnicas/-/produto-servico/1038/maracuja-azedo-brs-sol-do-cerrado-brs-sc1#:~:text=Maracuj%C3%A1%20azedo%20BRS%20Sol%20do%20Cerrado%20%28BRS%20SC1%29,apresentando%20rendimento%20de%20polpa%20em%20torno%20de%2038%25..> Acesso em: 10/2023

ES-SOUFI, R.; TAHIRI, H.; AZAROUAL, L.; OUALKADI, A.; MARTIN, P.; BADOUC, A.; LAMARTI, A. *In vitro* Antagonistic Activity of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens* against *Colletotrichum acutatum*. **Advances in Microbiology**, v.10, n.3, 2020.

FERREIRA, F.V.; HERRMANN-ANDRADE, A.M.; CALABRESA, C.D.; BELO, F.; VÁZQUEZ, D.; MUSUMECI, M.A. Effectiveness of *Trichoderma* strains isolated from the rhizosphere of citrus tree to control *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Penicillium digitatum* A21 resistant to pyrimethanil in post-harvest oranges (*Citrus sinensis* L. (Osbeck)). **Journal of Applied Microbiology**, v.129, n. 3, p. 712–727, 2020.

GRANO-MALDONADO, M.I.; RAMOS-PAYAN, R.; RIVERA-CHAPARRO, F.; AGUILAR-MEDINA, M.; ROMERO-QUINTANA, J.G.; RODRÍGUEZ-SANTIAGO, A.; NIEVES-SOTO, M. Fusarium sp. Isolated from Mangrove in Mexico and the Antagonist Effect of *Trichoderma harzianum* as an Effective Biocontrol Agent. **Plant Pathol J.**, v.37, n.5, p.465–475, 2021.

HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; RUBIO, M. B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: GUPTA, V. K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. **Biotechnology and biology of Trichoderma**. (Ed.). Amsterdam: Elsevier, 2014, p. 125-137.

IBGE. 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/>. Acesso: 11/2023

KOPPERT. 2023. Disponível em: <https://www.koppert.com.br/>. Acesso: 12/2023.
LOHMANN, G.T.; RABUSKE, J.E.; SAVIAN, L.G.; TONETTO, T.S.; MUNIZ, M.F.B. Ação antagonista de *Trichoderma* spp. no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Biológica Catarinense**, v.9, n.1, p.25-35, 2022.

MAPA – Ministério de Agricultura, pecuária e Abastecimento. Visto em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/Mapa-registra-recorde-de-95-defensivos-biologicos-em-2020> . Acesso: 09/2023.

MEDEIROS, F.H.V.; SILVA, J.C.P.; PASCHOLATI, S.F. Controle biológico de doenças de plantas. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia**. (5. Ed). São Paulo: Agronômica ceres, 2018. 573p.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, p.083-091,2011.

MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. **Trichoderma: Uso na agricultura**. (1 ed). Embrapa, 2019, 538p.

MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. *In*: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília: Embrapa, 2019, 538p

MORALES-MORA, L.A.; ANDRADE-HOYOS, P.; VALÊNCIA-DE ITÁ, M.A.; ROMERO-ARENAS, O.; SILVA-ROJAS, H.V. Contreras-Paredes, C.A. Characterization of strawberry associated fungi and in vitro antagonistic effect of *Trichoderma harzianum*. **Rev. mex. Fitopatol**, v.38, n.3, 2020.

MORANDI, M.A.B.; BETTIOL, W.; PAULO JÚNIOR, T.J. Controle biológico de doenças de plantas. *In*: ZAMBROLIM, L.; JESUS JÚNIOR, W.C.; RODRIGUES, F.A. **O essencial da fitopatologia: Controle de doenças de plantas**. Viçosa: UFV, 2014, 117p.

MORANDI, M.A.B.; JÚNIOR, T.J.P.; BETTIOL, W.; TEIXEIRA, H. Controle biológico de fungos fitopatogênicos. *In*: VENZON, M.; JÚNIOR, T.J.P.; BETTIOL, W.; TEIXEIRA, H. **Controle biológico de pragas, doenças e plantas invasoras**. (ed.) Epamig, 2009, 124 p.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitossanidade) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, p. 111, 1991.

QUEVEDO, A.C.; MUNIZ, M.F.B.; SAVIAN, L.G.; SARZI, J.S.; SALDANHA, M.A. *In vitro* antagonist action of *Trichoderma* spp. about *Fusarium oxysporum*. **Ciência Florestal**, v. 32, n. 4, p. 2288-2303, 2022

RAMADA, M.H.; LOPES, F.A.C.; ULHOA, C.J. *Trichoderma*: metabólitos. *In*: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília: Embrapa, 2019, 538p

SÃO JOSÉ, A.R. **Controle fitossanitário do maracujá**. 2015. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/controle-fitossanitario-do-maracuja/>
SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat SoftwarevVersion 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **Afr. J. Agric. Res**, v.11, n.39, p.3733-3740, 2016.

SUASSUNA, N.D.; SILVA, J.C.; BETTIOL, W. Uso do *Trichoderma* na cultura do algodão
In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. *Trichoderma: uso na agricultura*. Brasília:
Embrapa, 2019, 538p.

SUTARMAN.; MIFTAHURROHMAT, A.; NURMALASARI, I.R.; PRIHATINNIGRUM,
A.E. *In Vitro* Evaluation of The Inhibitory Power of *Trichoderma harzianum* Against
Pathogens that Cause Anthracnose in Chili. **Journal of Physics: Conference Series**, v.1764,
p. 15-16, 2020.

TEJA, M.B.S.; MISHRA, J.P.; PRASAD, R.; SEKHAR, J.C.; REDDY, V.P.; KUMAR, S.;
KIRANMAYEE, V. Isolation and in vitro evaluation of bio control agents against
anthracnose of sorghum caused by *Colletotrichum graminicola*. **Journal of Pharmacognosy
and Phytochemistry**, v. 9, n. 4, 2020

TIJERINO, A.; CARDOZA, R.E.; MORAGA, J.; MALMIERCA, M.G.; VICENTE,
F.; ALEU, J.; COLLADO, I.G.; GUTIÉRREZ,S.; MONTE, E.; HERMOSA, R.
Overexpression of the trichodiene synthase gene *tri5* increases trichodermin production and
antimicrobial activity in *Trichoderma brevicompactum*. **Fungal Genetics and Biology**, v.48,
n. 3, p. 285-296, 2011.