

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA - UFU  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – ICIAG  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

GESIANE RIBEIRO GUIMARÃES

MORFOLOGIA, PATOGENICIDADE E SENSIBILIDADE À FUNGICIDAS DE ISOLADOS DE  
*Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus & WD Moore

UBERLÂNDIA  
2021

GESIANE RIBEIRO GUIMARÃES

MORFOLOGIA, PATOGENICIDADE E SENSIBILIDADE À FUNGICIDAS DE ISOLADOS DE  
*Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus & WD Moore

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Doutorado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutora”.

Orientador

Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti

Coorientador

Prof. Dr. Milton Luiz da Paz Lima

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

G963 Guimarães, Gesiane Ribeiro, 1990-  
2021 Morfologia, patogenicidade e sensibilidade à  
fungicidas de isolados de *Colletotrichum truncatum*  
(Schw.) Andrus & WD Moore [recurso eletrônico] / Gesiane  
Ribeiro Guimarães. - 2021.

Orientador: Fernando Cezar Juliatti.  
Coorientador: Milton Luiz da Paz Lima.  
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Pós-graduação em Agronomia.  
Modo de acesso: Internet.  
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2021.148>  
Inclui bibliografia.  
Inclui ilustrações.

1. Agronomia. I. Juliatti, Fernando Cezar, 1957-,  
(Orient.). II. Lima, Milton Luiz da Paz, 1975-,  
(Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia.  
Pós-graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU: 631

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



## ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Tese 002/2021 PPGAGRO				
Data:	Vinte e seis de fevereiro de dois mil e vinte e um	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	11:30
Matrícula do Discente:	11713AGR013				
Nome do Discente:	Gesiane Ribeiro Guimarães				
Título do Trabalho:	Morfologia, patogenicidade e sensibilidade à fungicidas de isolados de <i>Colletotrichum truncatum</i> (Schw.) Andrus & WD Moore				
Área de concentração:	Fitopatologia				
Linha de pesquisa:	Controle e Manejo Integrado de Doenças				

Reuniu-se por videoconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agronomia, assim composta: Nilvanira Donizete Tebaldi - UFU; Osvaldo Toshiyuki Hamawaki - UFU; Muza do Carmo Vieira - IFG; Juliana Araújo Santos Martins - IFTM; Fernando Cezar Juliatti - UFU orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr. Fernando Cezar Juliatti, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Fernando Cezar JuliaG, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/02/2021, às 11:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Nilvanira Donizete Tebaldi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/02/2021, às 11:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Oswaldo Tosiyuki Hamawaki, Presidente**, em 26/02/2021, às 11:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Muza do Carmo Vieira, Usuário Externo**, em 28/02/2021, às 19:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **JULIANAARAÚJOSANTOS MARTINS, Usuário Externo**, em 01/03/2021, às 10:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2539311** e o código CRC **9A64F974**.

## Dedicatória

Dedico a meus pais Geraci e Ana Maria e aos meus irmãos Giselle, Geraci Junior, que sempre me apoiaram com todo seu amor e carinho e me estimularam a nunca desistir dos meus objetivos. E ao meu coorientador pelo esforço e dedicação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela beleza existente em todas as coisas, por todas as oportunidades e por dar-me saúde, força, paciência, perseverança, audácia e coragem para correr atrás dos meus sonhos e enfrentar os momentos difíceis; Ao Instituto Federal Goiano *campus* Urutaí em especial o Laboratório de Microbiologia, agradeço não só a formação acadêmica, mas também a oportunidade e todo apoio para realização desta tese. Quero agradecer de modo especial ao meu co-orientador Milton, por sua orientação, atenção, suporte, otimismo, acolhimento, confiança e amizade;

Obrigada por esta oportunidade de aprender e contribuir com a Ciência.

Agradeço à minha mãe, Ana Maria, e ao meu pai, Geraci, pela dedicação, pelo amor, pela confiança, pelo apoio incondicional e pelos sacrifícios que fizeram para que eu concluísse as diversas etapas de minha vida;

Aos meus irmãos, Giselle e Geraci Júnior, pelo carinho, apoio, incentivo, amizade, confiança, atenção e, principalmente, todos os conselhos;

Ao Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti pela orientação, suporte, acolhimento, confiança e paciência;

Aos professores do curso que contribuíram para minha formação profissional:

A vocês que dedicaram seu tempo e sua experiência, o meu muito obrigado e eterno reconhecimento.

Obrigada especialmente aos eternos amigos Fagner, Mirella, Poliana e a todos que torceram por mim.

À minha amiga Gaby, por sempre somar entusiasmos e alegrias.

Obrigada por tantos momentos de alegria e amizade. Sentirei muito a falta de vocês!

A todos que de alguma forma colaboraram com o meu percurso acadêmico;

Aqueles que não atrapalharam e aqueles que torceram e/ou acreditaram em minhas capacidades.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	11
CAPÍTULO I.....	17
RESUMO .....	18
ABSTRACT .....	19
1 INTRODUÇÃO .....	20
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	21
2.1 Coleta de isolados dos isolados <i>Colletotrichum</i> spp. ....	21
2.2 Obtenção das culturas puras e manutenção.....	22
2.3 Estudo da diversidade cultural, morfológica e morfométrica em soja .....	22
2.4 Método de inoculação em folha, haste e vagem destacada .....	23
2.5 Análise estatística.....	23
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	24
3.1 Caracterização cultural e morfológica dos isolados .....	24
3.2 Método de inoculação em folha destacada.....	33
CONCLUSÕES .....	36
REFERÊNCIAS .....	36
CAPÍTULO II .....	40
RESUMO .....	41
ABSTRACT .....	42
1 INTRODUÇÃO .....	43
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	44
2.1 Coleta dos isolados <i>Colletotrichum truncatum</i> .....	44
2.2 Obtenção das culturas puras e manutenção.....	46
2.3 Avaliação do crescimento micelial em diferentes temperaturas .....	46
2.4 Análise estatística.....	47
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	47
3.1 Avaliação do crescimento micelial em diferentes temperaturas .....	47
4 CONCLUSÕES .....	50
REFERÊNCIAS .....	51
CAPÍTULO III.....	56
RESUMO .....	57
ABSTRACT .....	58

1 INTRODUÇÃO .....	59
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	61
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	64
3.1 Sensibilidade de isolados de <i>C. truncatum</i> oriundos de soja a piraclostrobina + fluxapiroxade + epoxiconazol.....	64
3.2 Sensibilidade de isolados de <i>C. truncatum</i> oriundos de soja a trifloxistrobina + protioconazol.....	67
3.3 Sensibilidade de isolados de <i>C. truncatum</i> oriundos de soja a piraclostrobina + fluxapiroxade .....	73
3.4 Sensibilidade de isolados de <i>C. truncatum</i> oriundos de soja a trifloxistrobina + protioconazol / Piraclostrobina + Fluxapiroxade / Piraclostrobina + Fluxapiroxade + Epoxiconazol.....	76
4 CONCLUSÕES .....	78
REFERÊNCIAS.....	79

## RESUMO

GUIMARAES, GESIANE RIBEIRO. **Morfologia, patogenicidade e sensibilidade à fungicidas de isolados de *Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus & WD Moore.** 2021. 83f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.<sup>1</sup>

A antracnose da soja (*Glycine max.* L.) ocorre em todas as áreas de produção de soja do mundo. Entre os fatores que limitam a obtenção de altos rendimentos da soja estão às doenças. A antracnose é uma das principais doenças da cultura, sendo causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*. No primeiro capítulo isolados de *Colletotrichum truncatum* foram obtidos de várias hospedeiras, oriundos de diferentes regiões produtoras de soja. Culturas puras foram obtidas e inoculadas em folhas, hastes e vagens destacadas. Em relação à coloração micelial houve variação do aspecto da colônia de *C. truncatum*. A taxa de crescimento micelial entre os isolados apresentou uma amplitude de 8,5 mm.dia<sup>-1</sup> (isolado de Passo Fundo-RS) a 9,10 mm.dia<sup>-1</sup> (isolado de Passo Fundo-RS), demonstrando menor e maior atividade fisiológica, respectivamente, dos isolados em condições artificiais. Na haste os isolados que apresentaram menor lesão e que diferiram estatisticamente das demais foram os isolados Passo Fundo-RS, Brasília-DF e Urutaí-GO, 12 foram menos agressivos se comparados aos demais com lesões de 33,46 a 35,10 mm de comprimento. O mais agressivo produziu lesões de 35,38 a 37,55 mm de comprimento. Na folha o isolado mais agressivo foi o isolado Brasília-DF a lesão chegou a 79,99 mm de comprimento, sendo seguidos pelos isolados Passo Fundo-RS, Brasília-DF e Urutaí-GO. Na vagem o isolado mais agressivo foi o isolado Brasília-DF a lesão chegou a 49,79 mm de comprimento e os menos agressivos foram os isolados Passo Fundo-RS e Urutaí. No capítulo 2, o objetivo foi avaliar o efeito da temperatura nos isolados. As placas foram submetidas à incubação com temperatura de 20°; 25°; 27°; 32°; e 35°C, sob fotoperíodo de 12 h, durante sete dias em BOD. A avaliação do crescimento micelial foi feita pela medição, a cada 24 h, registrando-se o diâmetro em milímetros das colônias em posição ortogonal, durante sete dias a partir do momento em que foram colocados os discos de micélio contendo o isolado. As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico R. As variáveis significativas no teste F da análise de variância foram submetidas ao teste de médias e à análise de regressão. Os isolados apresentaram comportamento diferenciado na velocidade de crescimento micelial com capacidade adaptativa em diferentes temperaturas. No capítulo três objetivo do trabalho foi avaliar *in vitro* a sensibilidade de diferentes isolados de *C. truncatum* coletados em diferentes locais, os fungicidas de distintos ingredientes ativos incorporados ao BDA nas concentrações de 0; 0,1; 1,0; 10 e 100 ppm. Foi avaliada a porcentagem do fungo quando submetidos aos fungicidas: piraclostrobina + fluxapiróxade + epoxiconazol, trifloxistrobina + protioconazol e piraclostrobina + fluxapiróxade para estabelecer qual deles apresentou uma maior eficiência de controle. Pode-se verificar a grande variabilidade de sensibilidade de isolados *C. truncatum* apresentam perante as diferentes moléculas e a importância de detecção de populações resistentes.

**Palavras-chave:** Morfometria. Fisiologia. Sensibilidade. *Glycine max* L. Biologia.

---

<sup>1</sup>Orientador: Fernando Cezar Juliatti (UFU).

## ABSTRACT

GUIMARAES, GESIANE RIBEIRO. **Morphology, pathogenicity and sensitivity to fungicides of isolates from *Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus & WD Moore.** 2021. 84 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.<sup>1</sup>

Anthrachnose from soy (*Glycine max* L.) occurs in all areas of soy production in the world. Among the factors that limit the achievement of high soybean yields are diseases. Anthrachnose is one of the main diseases of the crop, being caused by the fungus *Colletotrichum truncatum*. In the first chapter, isolates of *Colletotrichum truncatum* were obtained from several hosts, coming from different soy producing regions. Pure cultures were obtained and inoculated in leaves, stems and pods detached. Regarding mycelial staining, there was variation in the appearance of the *C. truncatum* colony. The rate of mycelial growth among the isolates ranged from 8.5 mm.day<sup>-1</sup> (isolated from Passo Fundo-RS) to 9.10 mm.day<sup>-1</sup> (isolated from Passo Fundo-RS), demonstrating a smaller and greater physiological activity, respectively, of the isolates under artificial conditions. In the stem, the isolates that showed less injury and that differed statistically from the others were the isolates Passo Fundo-RS, Brasília-DF and Urutaí-GO, 12 were less aggressive compared to the others with lesions ranging from 33.46 to 35.10 mm. length. The most aggressive produced injuries from 35.38 to 37.55 mm in length. On the leaf the most aggressive isolate was the Brasília-DF isolate, the lesion reached 79.99 mm in length, followed by the Passo Fundo-RS, Brasília-DF and Urutaí-GO isolates. In the pod, the most aggressive isolate was the Brasília-DF isolate, the lesion reached 49.79 mm in length and the least aggressive were the Passo Fundo-RS and Urutaí isolates. In chapter 2, the objective was to evaluate the effect of temperature on the isolates. The plates were subjected to incubation at a temperature of 20°; 25th; 27th; 32nd; and 35°C, under 12 h photoperiod, for seven days in BOD. The evaluation of mycelial growth was made by measuring every 24 h, recording the diameter in millimeters of the colonies in an orthogonal position, for seven days from the moment the mycelium discs containing the isolate were placed. Statistical analyzes were performed in the statistical program R. The significant variables in the F test of the analysis of variance were subjected to the means test and to the regression analysis. The isolates showed different behavior in the speed of mycelial growth with adaptive capacity at different temperatures. In chapter three, the objective of the work was to evaluate in vitro the sensitivity of different isolates of *C. truncatum* collected in different locations, the fungicides of different active ingredients incorporated to the BDA at concentrations of 0; 0.1; 1.0; 10 and 100 ppm. The percentage of the fungus was evaluated when subjected to fungicides: pyraclostrobin + fluxpyroxade + epoxiconazole, trifloxystrobin + prothioconazole and pyraclostrobin + fluxpyroxade to establish which one had the highest control efficiency. It is possible to verify the great variability of sensitivity of *C. truncatum* isolates present before the different molecules and the importance of detecting resistant populations.

**Keywords:** Morphometry. Physiology. Sensitivity. *Glycine max* L. Biology.

---

<sup>1</sup>Orientador: Fernando Cezar Juliatti (UFU).

## CAPÍTULO I

CARACTERIZAÇÃO MORFOCULTURAL E BIOLÓGICA DE ISOLADOS DE  
*Colletotrichum truncatum* PROVENIENTE DE SOJA

## CARACTERIZAÇÃO MORFOCULTURAL E BIOLÓGICA, DE ISOLADOS DE *Colletotrichum truncatum* PROVENIENTE DE SOJA

### RESUMO

A cultura da soja (*Glycine max* L.) está em constante expansão no Brasil, principalmente na região Centro-Oeste, responsável por 53% da produção brasileira. Condições de alta temperatura e umidade favorecem a ocorrência de antracnose levando a possível perda total da produção. O objetivo do presente trabalho foi caracterização morfofocultural, biológica e patogênica de isolados de *Colletotrichum truncatum* proveniente de soja. Os isolados foram obtidos através do isolamento em meio ágar água (AA), preparando-se culturas monospóricas, sendo repicados para formação de culturas puras em meio de cultura BDA. Em relação à coloração micelial houve variação do aspecto da colônia de *C. truncatum*. A taxa de crescimento micelial entre os isolados apresentou uma amplitude de 8,5 mm.dia<sup>-1</sup> (isolado de Passo Fundo-RS) a 9,10 mm.dia<sup>-1</sup> (isolado de Passo Fundo-RS), demonstrando menor e maior atividade fisiológica, respectivamente, dos isolados em condições artificiais. Os isolados de Passo Fundo-RS, podem ser utilizados em programas de seleção de plantas resistentes a antracnoses, devido ao fato de oferecer rápido crescimento e produção micelial, e ainda mais importante os isolados (com exceção dos isolados de Urutaí-GO,) merecem destaque por produzirem em abundância conídios em condições artificiais sendo importantes para processos de inoculação e estudos de resistência. Na haste os isolados que apresentaram menor lesão e que diferiram estatisticamente das demais foram os isolados Passo Fundo-RS, Brasília-DF e Urutaí-GO foram menos agressivos se comparados aos demais, com lesões de 33,46 a 35,10 mm de comprimento. O mais agressivo produziu lesões de 35,38 a 37,55 mm de comprimento. Na folha o isolado mais agressivo foi o isolado Brasília-DF a lesão chegou a 79,99 mm de comprimento, sendo seguidos pelos isolados Passo Fundo-RS e Brasília. Na vagem o isolado mais agressivo foi o isolado Brasília-DF a lesão chegou a 49,79 mm de comprimento e os menos agressivos foram os isolados Passo Fundo-RS, Brasília-DF e Urutaí-GO.

**Palavras-chave:** Inoculação cruzada. Antracnose. Doenças foliares.

## MORPHOCULTURAL AND BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF ISOLATES OF *Colletotrichum truncatum* FROM SOYBEAN

### ABSTRACT

The cultivation of soybeans (*Glycine max* L.) is constantly expanding in Brazil, mainly in the Midwest region, responsible for 53% of Brazilian production. High temperature and humidity conditions favor the occurrence of anthracnose leading to possible total loss of production. The aim of the present work was to characterize morphocultural, biological and pathogenic isolates of *Colletotrichum truncatum* from soybeans. The isolates were obtained through isolation in water agar (AA), preparing monosporic cultures, being seeded to form pure cultures in BDA culture medium. Regarding mycelial staining, there was variation in the appearance of the *C. truncatum* colony. The rate of mycelial growth among the isolates ranged from 8.5 mm.day<sup>-1</sup> (isolated from Passo Fundo-RS) to 9.10 mm.day<sup>-1</sup> (isolated from Passo Fundo-RS), demonstrating a smaller and greater physiological activity, respectively, of the isolates under artificial conditions. The isolates of Passo Fundo-RS, can be used in programs of selection of plants resistant to anthracnose, due to the fact of offering fast growth and mycelial production, and even more importantly the isolates (with the exception of the isolates of Urutaí-GO,) deserve outstanding for producing conidia in abundance under artificial conditions, being important for inoculation processes and resistance studies. In the stem, the isolates that showed less injury and that differed statistically from the others were the isolates Passo Fundo-RS, Brasília-DF and Urutaí-GO were less aggressive compared to the others, with lesions ranging from 33.46 to 35.10 mm in length. The most aggressive produced injuries from 35.38 to 37.55 mm in length. On the leaf the most aggressive isolate was the Brasília-DF isolate, the lesion reached 79.99 mm in length, followed by the Passo Fundo-RS and Brasília isolates. In the pod, the most aggressive isolate was the Brasília-DF isolate, the lesion reached 49.79 mm in length and the least aggressive were the Passo Fundo-RS, Brasília-DF and Urutaí-GO isolates.

**Keywords:** Cross-inoculation, Anthracnose, Leaf diseases.

## 1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merr.] é uma das principais commodities agrícolas com alta relevância econômica global (Rogério et al., 2019). Os fatores que limitam o potencial produtivo desta cultura são as doenças causadas por fungos, bactérias, nematóides e vírus (Sinclair; Hartman, 2008). Uma doença fúngica importante da soja é a antracnose causada por *Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus e WD Moore, tendo importância econômica nas regiões tropicais úmidas e clima tropical do mundo (Yang; Hartman, 2015), sendo um dos principais problemas do Cerrado brasileiro (Godoy et al., 2016). Devido ao cenário de mudanças climáticas, a antracnose tornou-se uma ameaça à produção de soja em todas as regiões produtoras de soja (Nataraj et al., 2020).

As plantas de soja podem ser suscetíveis e infectadas em qualquer estágio de desenvolvimento (Goulart, 2018; Nataraj et al., 2020). A antracnose sob condições de alta umidade, causa apodrecimento e queda das vagens, abertura das vagens e germinação dos grãos em formação (Rogério et al., 2017). O patógeno infecta a haste causando manchas castanho-escuras e a base do pecíolo que causa perdas severas na soja (Pesqueira et al., 2016).

A diferenciação entre espécies de *Colletotrichum*, baseadas no hospedeiro de origem, pode não ser um critério confiável para fungos deste gênero, que podem infectar inúmeras espécies de plantas (Tozze Júnior, 2015). Deste modo, diversos estudos buscam caracterizar e identificar isolados de *Colletotrichum*, visando compreender a etiologia da antracnose em diferentes hospedeiros (Afanador-Kafuri et al., 2003; Stracieri, et al, 2016).

Tradicionalmente, *Colletotrichum* sp. foi identificado e caracterizado com base na morfologia de conídios e apressórios (Sutton, 1992; Vasconcelos et al., 2018). Devido aos avanços nas técnicas moleculares, esses métodos por si só não são suficientes para fornecer uma diferenciação confiável entre as espécies (Cannon et al. 2012), no entanto, a combinação de métodos convencionais e técnicas moleculares são fundamentais para a identificação e conhecimento das relações filogenéticas entre isolados de um determinado patógeno (Freemann; Katan; Shabi, 1998; Lopez, 2001; Tozze Júnior et al., 2006; Andrade et al., 2007). As dificuldades encontradas na identificação das espécies de *Colletotrichum* estão relacionadas à grande diversidade fenotípica, influência de fatores ambientais na estabilidade dos caracteres morfológicos

e culturais, existência de formas intermediárias e falta de padronização de condições culturais empregadas nos diferentes estudos (Sutton, 1992; Freeman et al., 1998; Andrade et al., 2007; Rogério et al., 2017).

Dessa forma, estudos dessa natureza, e principalmente a taxonomia dos agentes causais dos sintomas de antracnose em soja são essenciais para uma melhor compreensão desse patossistema, assim, como da epidemiologia da doença e, por conseguinte, melhorias na definição de estratégias de controle.

O objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade e caracterização morfofocultural, biológica e patogênica de isolados de *Colletotrichum truncatum* proveniente de soja.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí. Os isolados de *Colletotrichum truncatum* provenientes de Tocantins, Uberlândia e Urutaí foram caracterizados quanto a características morfofoculturais e morfométricas dos conídios e foi testada sua patogenicidade.

### 2.1 Coleta de isolados dos isolados *Colletotrichum* spp.

Os isolados de *Colletotrichum truncatum* foram obtidos a partir de folhas, hastes, pecíolos e vagens de plantas de soja que apresentam sintomas da doença, oriundas de lavouras de diversas regiões produtoras de soja no Brasil. Para obtenção de culturas foi empregado o método de isolamento indireto, no qual fragmentos de tecidos doentes após desinfestação superficial com álcool 70% durante um minuto, hipoclorito de sódio a 2% por 30 segundos e posteriormente em água destilada e esterilizada, foram transferidos para placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo o meio BDA (Batata Dextrose Ágar). As placas foram mantidas em incubadoras a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  com fotoperíodo 12 h por sete dias. Após esse período as colônias foram repicadas de acordo com as características morfológicas, considerando o aspecto e a coloração das colônias para novas placas de Petri com meio BDA e incubadas por igual período para posterior obtenção das culturas puras.

## 2.2 Obtenção das culturas puras e manutenção

Para a obtenção das culturas monospóricas foram preparadas uma suspensão de esporos distribuída com alça de Drigalsky sobre placas de Ágar-Água (AA) as quais foram incubadas por 24 h a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Esporos germinados foram transferidos isoladamente para placas de Petri contendo BDA. As placas forma incubadas conforme já descrito. Os isolados monospóricos foram mantidos em água estéril e armazenados em condição ambiente segundo a metodologia de Castellani et al. (1967).

## 2.3 Estudo da diversidade cultural, morfológica e morfométrica em soja

Foram caracterizados morfológicamente 50 isolados segundo Sutton (1980) e Hyde et al. (2009), os caracteres avaliados foram: coloração e aspecto micelial das colônias, aspecto da colônia na frente e verso das placas em meio BDA, crescimento em meio BDA com 7 dias de cultivo a  $25^{\circ}\text{C}$  e coloração da massa de esporos e morfologia da colônia.

A partir dessa integralização onde X foram os DAI e Y o diâmetro da colônia (subtraído do disco de micélio calculou-se área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM), integralizando a curva de progresso para cada dosagem e/ou isolado (diâmetro da colônia x DAI), por meio da fórmula:

$$\text{AACPCM} = \sum_i^{n-1} \frac{(X_i + X_{i+1})(t_{i+1} - t_i)}{2}$$

Onde, n é o número de avaliações do diâmetro da colônia,  $X_i$  é a diâmetro da colônia (mm) e  $(t_{i+1} - t_i)$  é o número em dias entre as avaliações consecutivas (Shanner e Finlay, 1978). O valor da AACPCM sintetiza todas as avaliações de severidade em um único valor.

A taxa de crescimento micelial (TCM) foi calculada através da regressão linear sendo os dias de incubação (valor de X) e Y os valores de diâmetro de colônia, respectivamente, sendo o parâmetro de coeficiente angular obtido no Excel®, (procedimento = inclinação(y;x) correspondente a taxa de crescimento dada em % de crescimento micelial (mm) dia<sup>-1</sup>. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com três repetições por isolado. Os valores médios foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Scott - Knott com  $p \leq 0,05$ .

## **2.4 Método de inoculação em folha, haste e vagem destacada**

Para a realização deste experimento utilizou-se o método da folha, haste e vagem destacada. Depositou-se vagens, hastes e folhas sadios de da soja “Cultivar Desafio”, assepticamente desinfestados com álcool (70%), por dois minutos e depois em hipoclorito de sódio, 1%, durante dois minutos, e então, lavados em água destilada (3 vezes).

Após a secagem, folhas, hastes e vagens foram dispostas em potes de polietileno de baixa densidade (PPEBD), previamente desinfestadas com as soluções anteriores. No fundo dos respectivos potes, foram colocados papéis mata-borrão umedecidos om água destilada em quantidade suficiente para manter o papel umedecido sem excesso.

Em cada embalagem, folhas, hastes e vagens adicionadas. Depositou-se um disco de meio de cultura ( $9 \text{ mm}^2$ ) contendo micélio dos isolados nas áreas da folha com ferimento (CF) com um perfurador flambado com pontas. Após este procedimento os potes foram cobertos, identificados com filme de polietileno para a formação de câmara úmida por um período de sete a dez dias em temperatura entre 25 a 30 °C. A avaliação da infecção foi realizada com o aparecimento de lesões formadas nas superfícies. O delineamento experimental utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado (DIC).

## **2.5 Análise estatística**

Os resultados dos isolados para a área abaixo da curva de progressão da área da lesão na haste, folha e vagem, foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Skott-Knott ( $p < 0,05$ ). Para essa análise utilizou o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2011).

O conjunto de dados foi inicialmente testado para atendimento às pressuposições do modelo de análise de variância: normalidade de distribuição dos resíduos e homogeneidade das variâncias pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente, ambos a 0,01 de significância ( $p > 0,01$ ), utilizando-se o programa SPSS 17.0 (SPSS, 2008). Nesta etapa foi checada a ocorrência de outliers no conjunto de dados através de gráfico boxplot de cada variável (Chambers et al., 1983); outliers foram removidos foi e estimados pelo método dos mínimos quadrados.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Caracterização cultural e morfológica dos isolados

Observou-se que os isolados de *Colletotrichum* spp. cultivados em meio BDA, obtidos a partir das folhas, hastes e vagens de plantas com sintomas de antracnose, coletadas nas diferentes regiões, de acordo com as características observadas, todos foram identificados como sendo pertencentes ao gênero *Colletotrichum* (Tabla 1) e pertencem a espécie-tipo *Colletotrichum truncatum* sensu conforme Sutton (1992).

**Tabela 1.** Identificação dos isolados de *C. truncatum*, características culturais das colônias provenientes das regiões DF, GO, MG e RS.

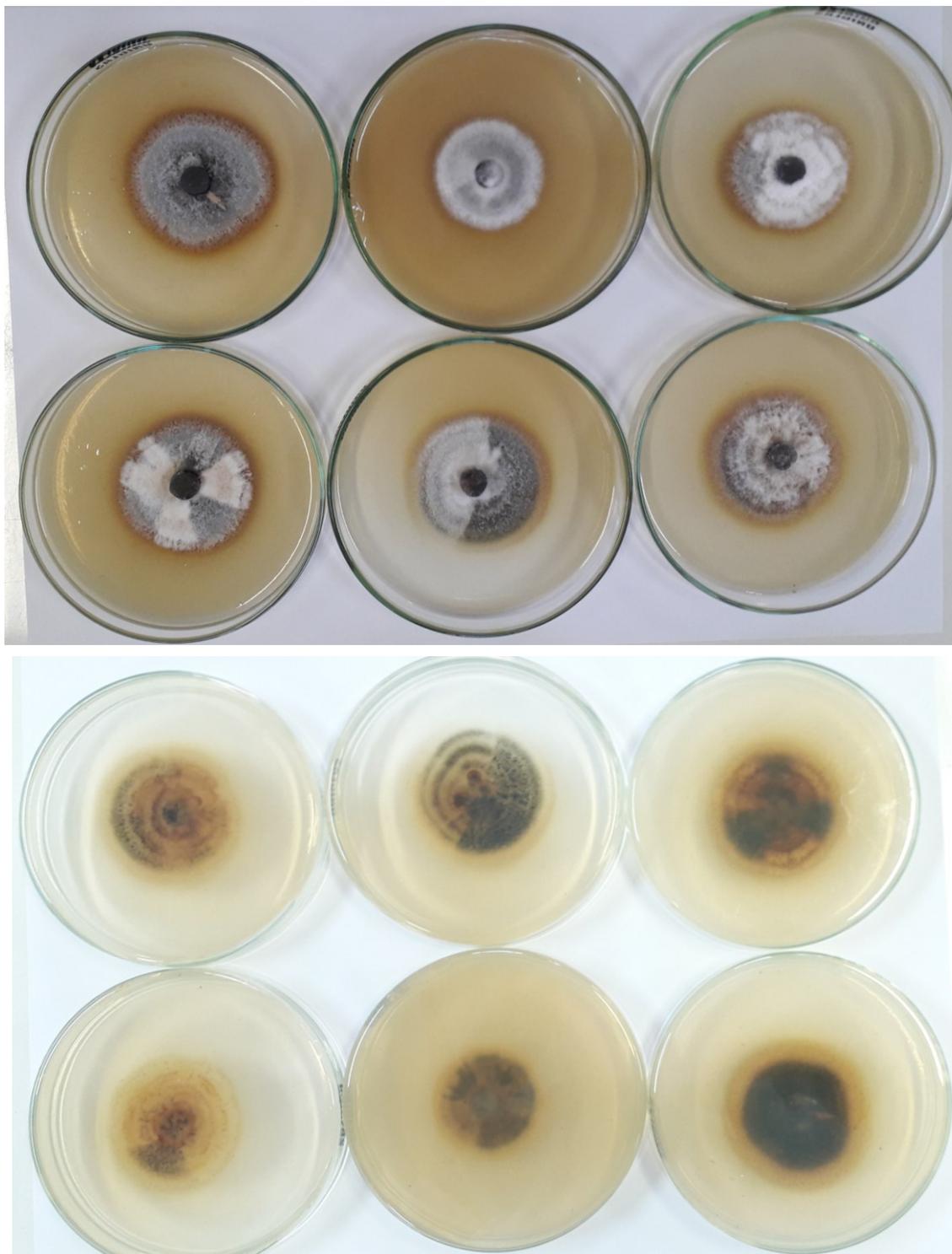
Isolados	Colônia	Massa de esporos	Reverso	Morfologia da colônia
Passo Fundo - RS	Cinza escura	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
Passo Fundo - RS	Cinza escura	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
Passo Fundo - RS	Cinza claro	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
Passo Fundo - RS	Cinza claro	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
Brasília - DF	Cinza claro	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
Brasília - DF	Cinza claro	Alaranjada	Cinza escuro	Irregular
Brasília - DF	Cinza escura	Bege	Cinza escuro	Irregular
Brasília - DF	Alaranjado	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
Urutaí - GO	Branco acinzentada	Ausente	Cinza escuro	Regular
Urutaí - GO	Branco acinzentada	Ausente	Cinza escuro	Regular
Urutaí - GO	Branco acinzentada	Bege	Cinza escuro	Regular
Urutaí - GO	Branco acinzentada	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
Urutaí - GO	Cinza claro	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
Urutaí - GO	Cinza claro	Ausente	Cinza escuro	Regular
Urutaí - GO	Cinza escura	Alaranjada	Cinza escuro	Regular

Quanto à coloração micelial houve variação do aspecto da colônia de *C. truncatum*. Foi observada a heterogeneidade na coloração da colônia variando de tons entre branca com cinza a cinza-claro e escuro na parte superior da colônia e no reverso da placa cinza escuro (Figura 1).

Foi verificada diferenciações entre as cores na frente e reverso das placas de Petri. Em relação à altura do micélio foi classificado como micélio elevado e o tipo de micélio foi identificado como micélio não cotonoso, levemente cotonoso, pouco cotonoso a cotonoso, e sua borda variou entre irregular e lisa, presença de pontuações negras e massa de esporos variando de bege a alaranjada (Tabela 1).

Considerando o diâmetro médio das colônias, essas variaram de 39 × 39 mm a 90 × 90 mm, o que determinou a velocidade de crescimento considerado lento, os isolados com diâmetro de colônia até 49 mm, intermediário; de 50 mm a 69 mm e rápido de 70 a 90 mm.

**Figura 1.** Morfotipos de colônias de *Colletotrichum truncatum* , cultivadas em meio BDA, após sete dias de incubação.



Todos os isolados apresentaram conídios unicelulares, não septados, hialinos, falcados, variando de  $15,5-24 \times 3-4 \mu\text{m}$ . Os resultados são semelhantes à classificação

de Sutton (1980) que relatou conídios medindo  $24-15,5 \times 4-3,5 \mu\text{m}$ . Os apressórios são abundantes, clavados, circulares ou irregulares, variando de  $13-14 \times 7-8,5 \mu\text{m}$ , pigmentados, com medidas relatadas por Sutton (1980), que foram de  $11-16 \times 8-9,5 \mu\text{m}$ . Cerca de 73,9 % dos isolados tiveram esporulação em procedimentos padrões de cultivo (meio de cultura BDA), confirmando a capacidade esporulativa de cepas em condições de crescimento artificial (Tabela 1).

As características morfológicas encontradas neste estudo estão de acordo com os dados da literatura para *C. truncatum* (Ford et al., 2004; Damm et al., 2009). Observou-se conídios falciformes, hialinos e unicelulares; apressório predominantemente truncada; acérvulos com cerdas; e ausência de microescleródios. O crescimento micelial diário é comumente usado na análise taxonômica do gênero *Colletotrichum* (Sutton, 1992) e é considerado uma característica estável e útil para a distinção de espécies (Tozze Júnior, 2007; Rogério et al., 2017). No entanto, não há relatos de estudos sobre a variabilidade dessa característica dentro da mesma espécie obtida no presente estudo, este por sua vez, consegue produzir conídios a partir de setas.

Em seu um de seus trabalhos sobre o gênero *Colletotrichum*, Menezes (2006) ressalta informações sobre aspectos biológicos e taxonômicos, a autora destaca que isolados de *Colletotrichum*, particularmente, *C. gloeosporioides* e *C. gossypii*, em determinadas condições ambientais, podem produzir conídios na extremidade das setas têm, portanto, função semelhante à de um conidióforo fialídico. Em trabalhos realizados por Lenné et al. (1984) e Menezes e Hanlin (1996) relatam que o mesmo já para as espécies acima mencionadas.

A taxa de crescimento micelial entre os isolados apresentou uma amplitude de  $8,5 \text{ mm.dia}^{-1}$  (isolado de de Passo Fundo-RS) a  $9,10 \text{ mm.dia}^{-1}$  (isolado de Passo Fundo-RS), demonstrando menor e maior atividade fisiológica, respectivamente, dos isolados em condições artificiais (Tabela 2).

Os isolados de Passo Fundo-RS são fortes candidatos em programas de seleção de plantas resistentes a antracnoses, devido ao fato de oferecer rápido crescimento e produção micelial (Tabela 3), e importante os isolados (com exceção dos isolados Urutaí-GO), merecem destaque por produzirem em abundância conídios em condições artificiais sendo importantes para processos de inoculação e estudos de resistência (Tabela 2).

Os isolados de Passo Fundo-RS ( $9,1 \text{ mm.dia}^{-1}$  187,3), ( $9,1 \text{ mm.dia}^{-1}$  182,3), que apresentaram as maiores taxas de crescimento apresentaram os maiores valores de

AACPCM, representando que estes em condições artificiais mostram maior atividade fisiológica (Tabela 2 e Figura 2).

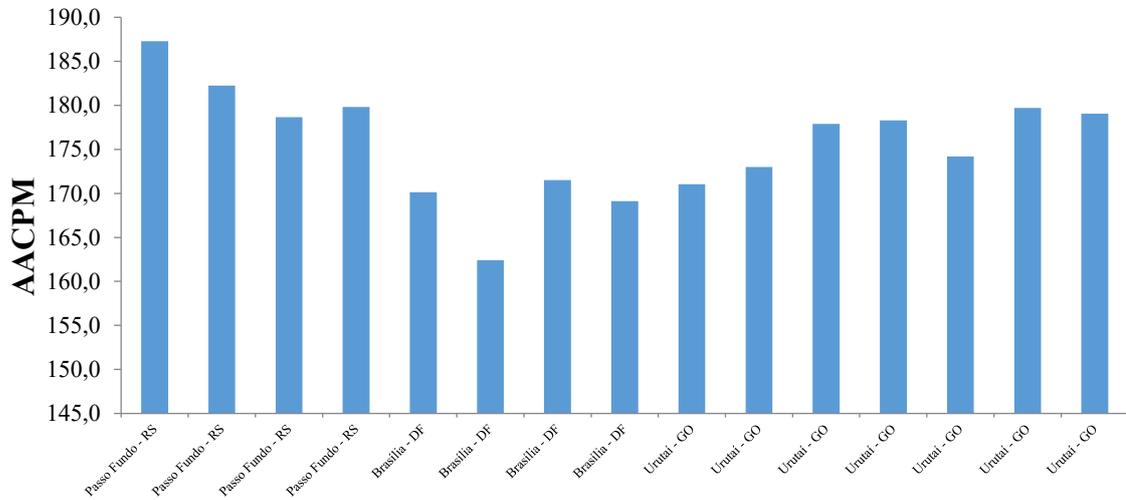
**Tabela 2.** Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM) e taxa de crescimento de isolados de *Colletotrichum truncatum*, aos sete dias após a incubação.

Dias de incubação		
Isolados	AACPCM	Tx
Passo Fundo - RS	187,3	9,1
Passo Fundo - RS	182,3	9,1
Passo Fundo - RS	178,7	8,5
Passo Fundo - RS	179,8	9,1
Brasília - DF	170,2	8,6
Brasília - DF	162,4	8,7
Brasília - DF	171,5	8,9
Brasília - DF	169,1	9,0
Urutaí - GO	171,1	8,7
Urutaí - GO	173,0	8,8
Urutaí - GO	177,9	8,9
Urutaí - GO	178,3	9,1
Urutaí - GO	174,2	9,0
Urutaí - GO	179,7	9,0
Urutaí - GO	179,1	8,9

A partir do terceiro dia de incubação os isolados divergiram quanto à velocidade de crescimento merecendo destaque os isolados de Passo Fundo – RS e Urutaí - GO por apresentarem maiores crescimentos miceliais (Figura 2). Esses dados são interessantes para que se possa em estudos posteriores utilizar isolados que se repliquem com certa rapidez, otimizando o trabalho de pesquisa de patogenicidade.

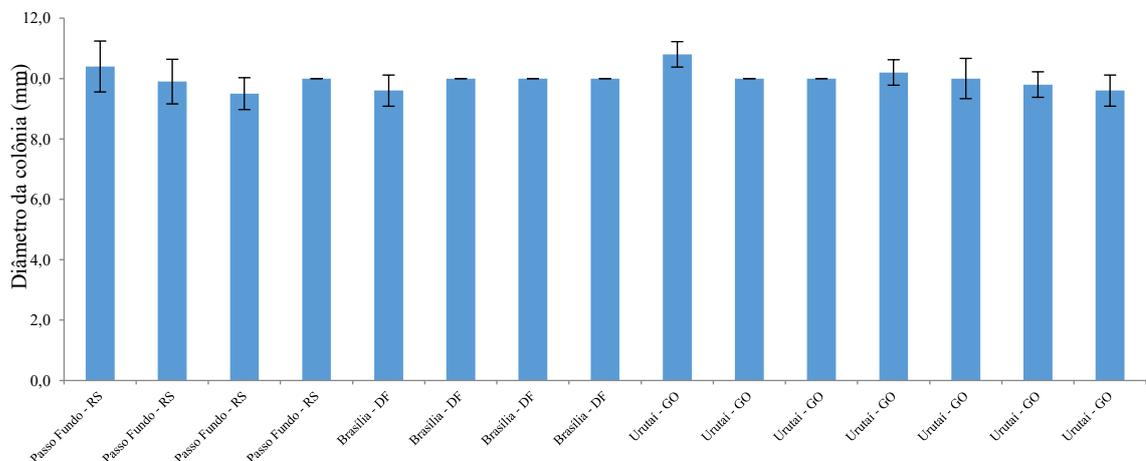
O isolado de Brasília-DF (Figura 3) apresentou a AACPM diferiu-se dos demais. Houve uma diversidade da atividade fisiológica dos isolados provavelmente associada à característica genética e de interação com o substrato para crescimento.

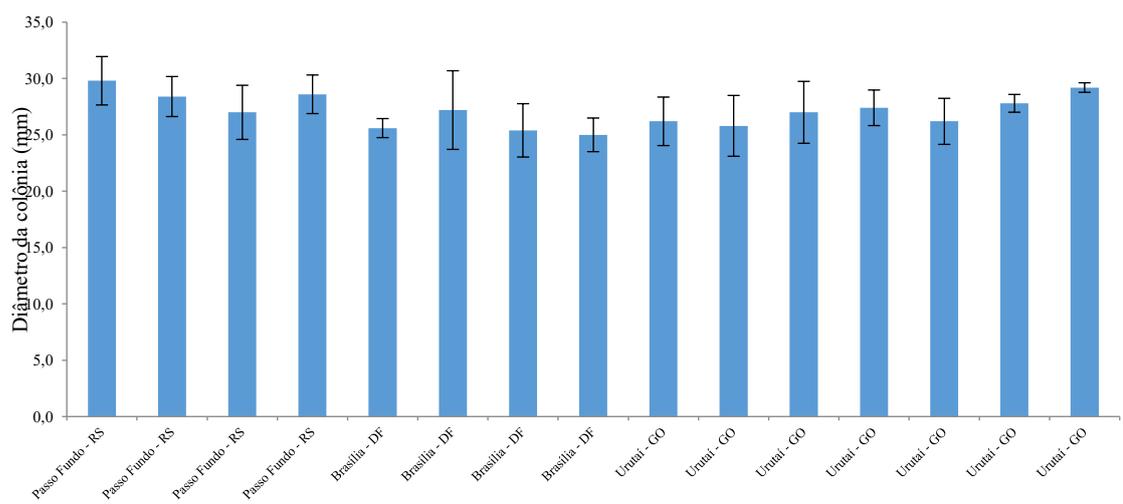
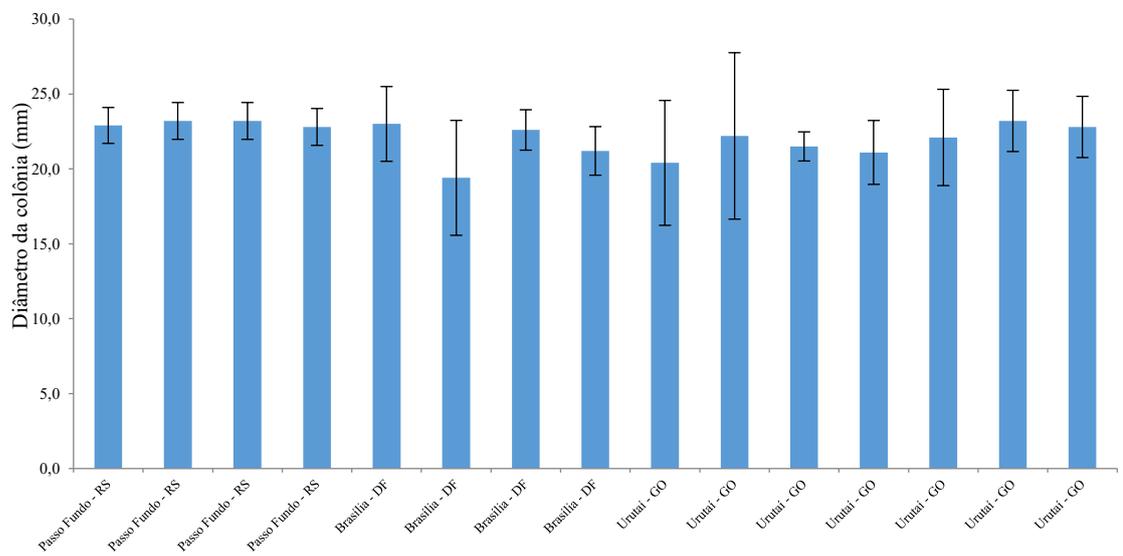
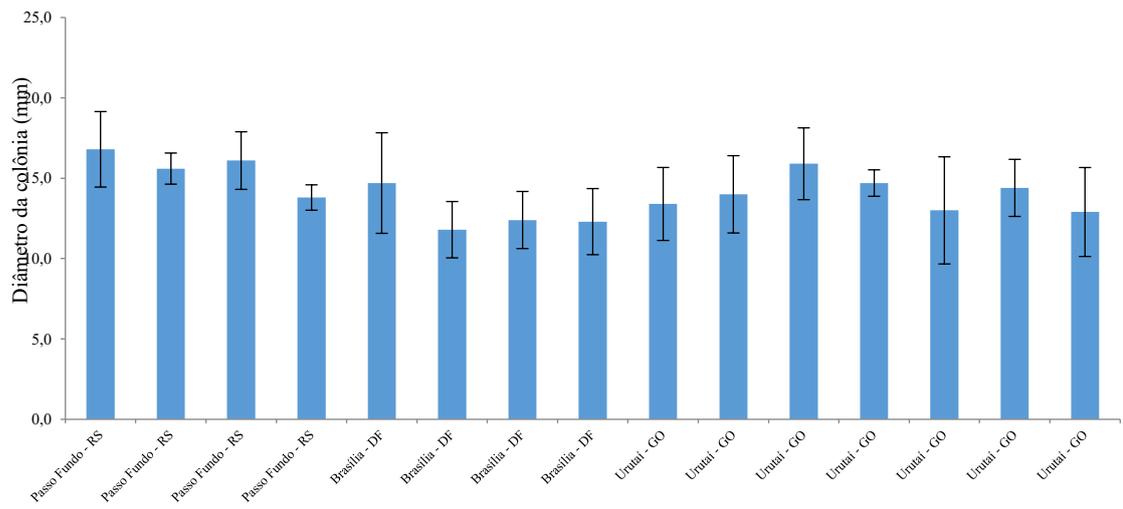
**Figura 2.** Área abaixo da curva de crescimento progresso micelial (AACPM) de diferentes isolados de *Colletotrichum truncatum* após sete dias de incubação.

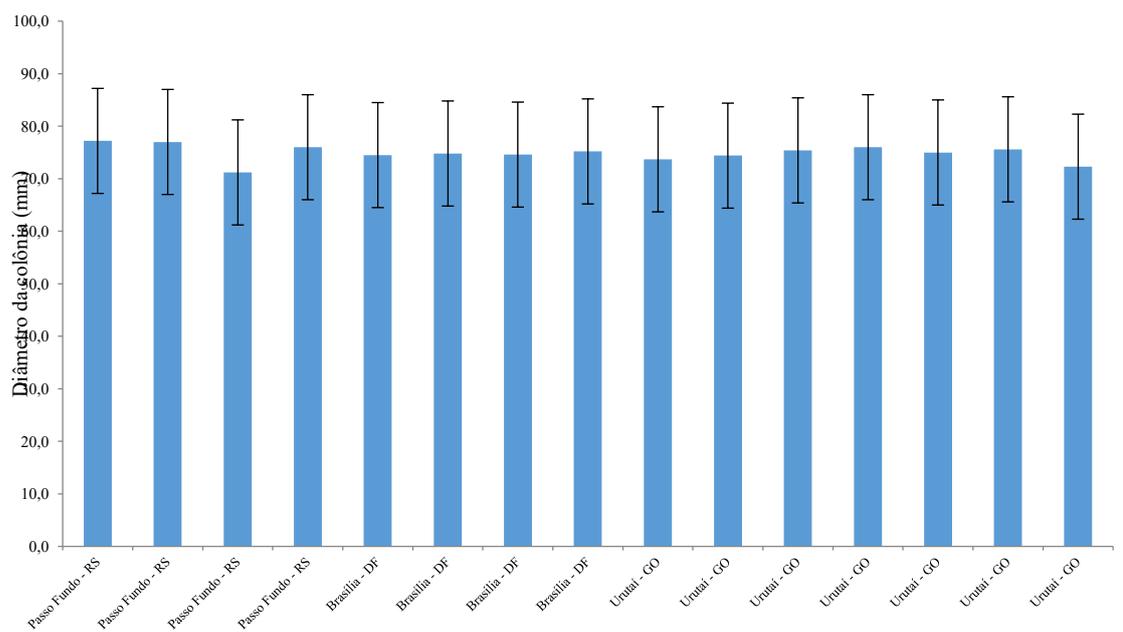
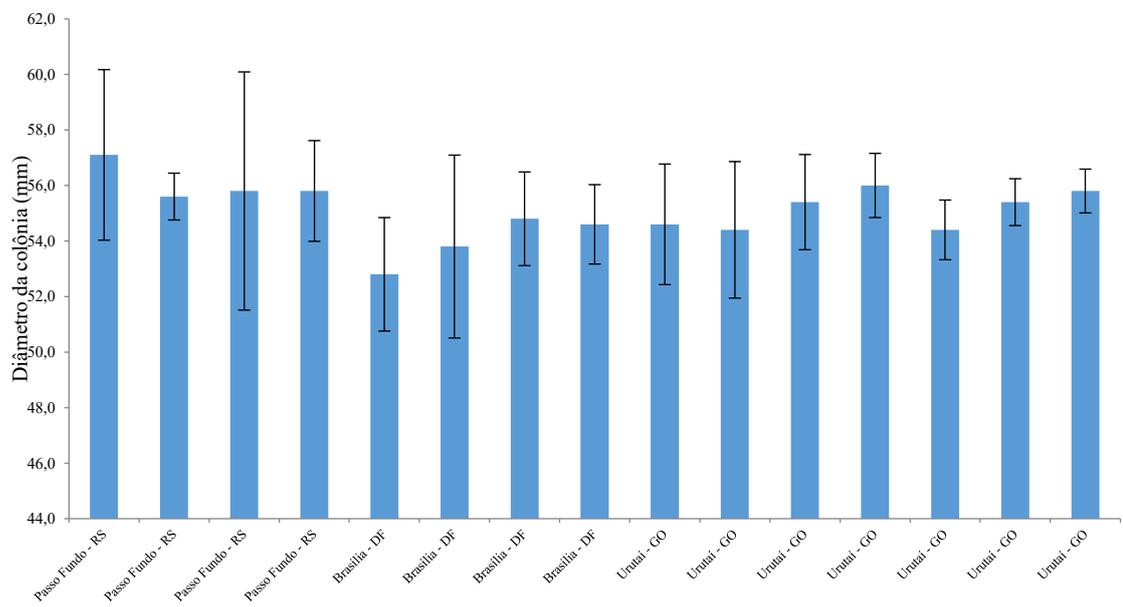
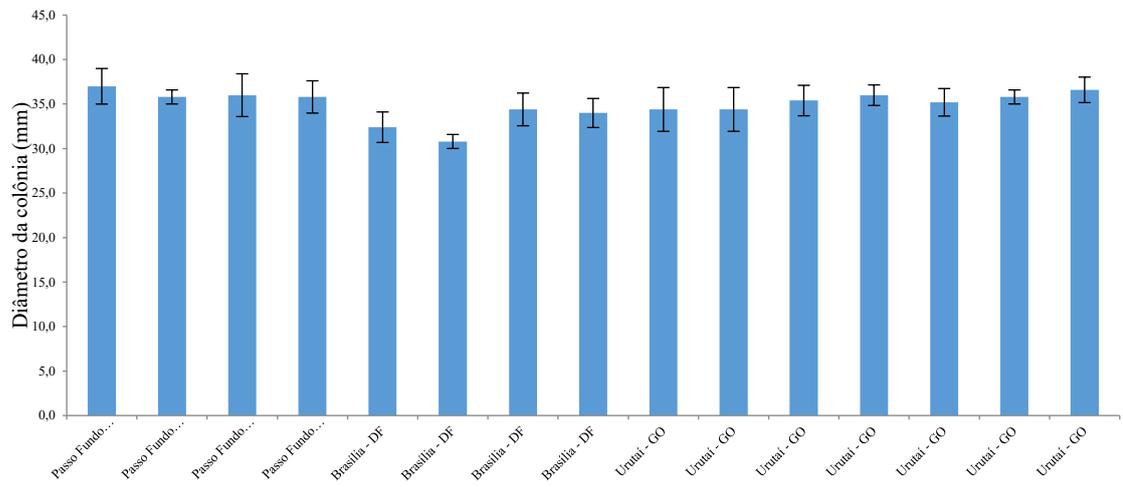


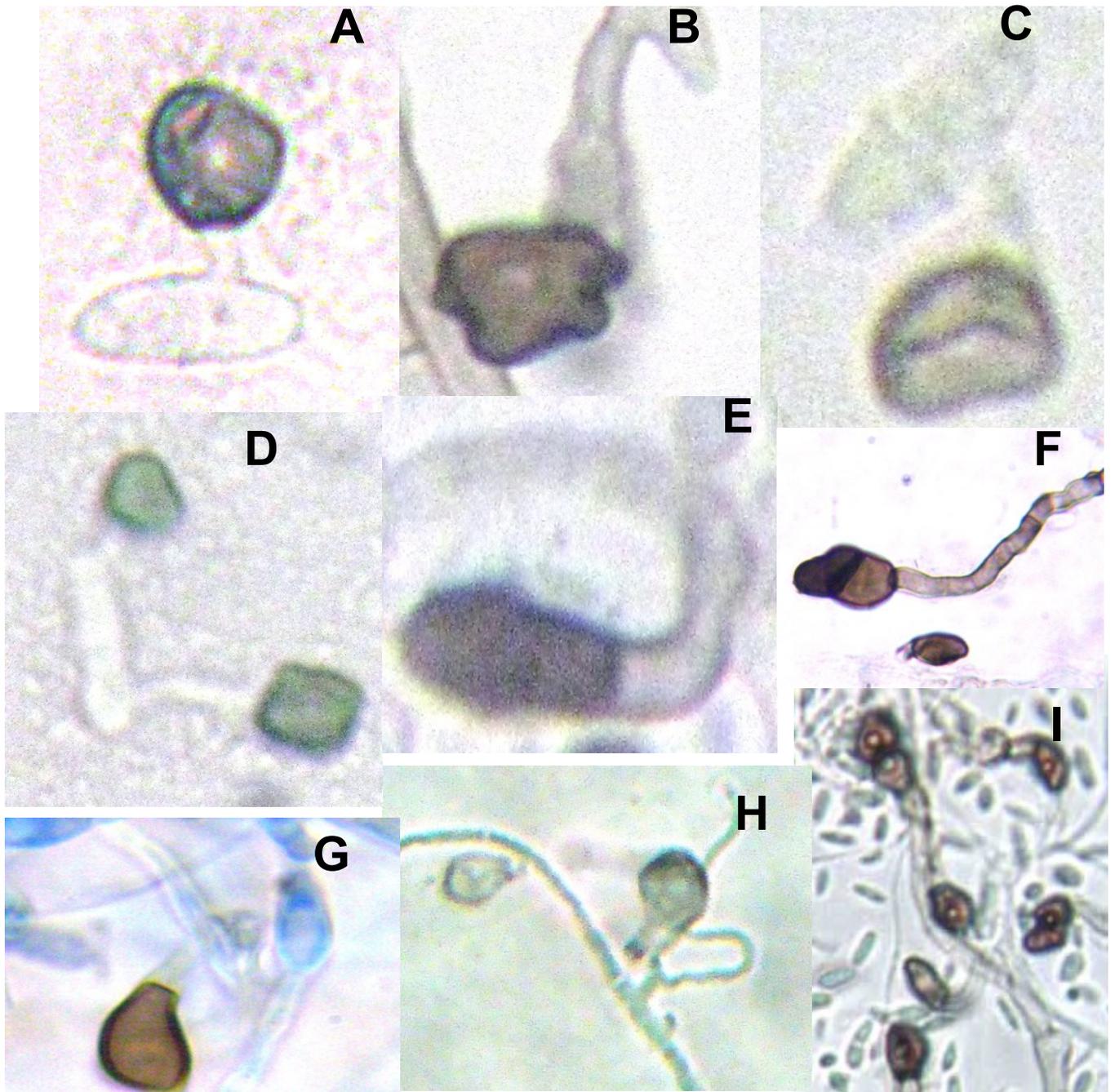
Ao primeiro dia o isolado 9 se sobressaiu dos demais (Figura 4A) e no segundo (Figura 4B) dia os isolados 1 e 4 apresentaram diferença do diâmetro da colônia. Somente no terceiro dia (Figura 4C) o isolado 6 diferiu numericamente dos demais isolados quanto ao diâmetro da colônia, e igualando-se sua média ao demais isolado ao sétimo dia (Figura 4G).

**Figura 4.** Diâmetro médio da colônia dos isolados de *Colletotrichum truncatum* oriundos de diferentes hospedeiros ao primeiro (A), segundo (B), terceiro (C), quarto (D), quinto (E), sexto (F) e sétimo (G) dia após a incubação (dap).









**Figura 3.** Tipos de apressórios de diferentes de isolados de *Colletotrichum truncatum*. **A.** Isolado isolado de Passo Fundo-RS **B.** Isolado de Passo Fundo-RS **C.** Isolado de Passo Fundo-RS **D.** Isolado de Passo Fundo-RS **E.** Isolado de Brasília-DF **F.** Isolado de Urutaí-GO **G.** Isolado de Urutaí-GO **H.** Isolado de Urutaí-GO **I.** Isolado de Urutaí-GO.



**Figura 4.** Conídios hialinos dos isolados de *Colletotrichum truncatum*.

### 3.2 Método de inoculação em folha destacada

Todos os isolados inoculados foram patogênicos com algumas diferenças na agressividade da parte planta inoculada. Os resultados obtidos haste, folhas e vagem se diferiram estatisticamente (Tabela 3).

**Tabela 3.** Médias da lesão em mm causadas por *C. truncatum* em haste, folha e vagem na cultivar Desafio.

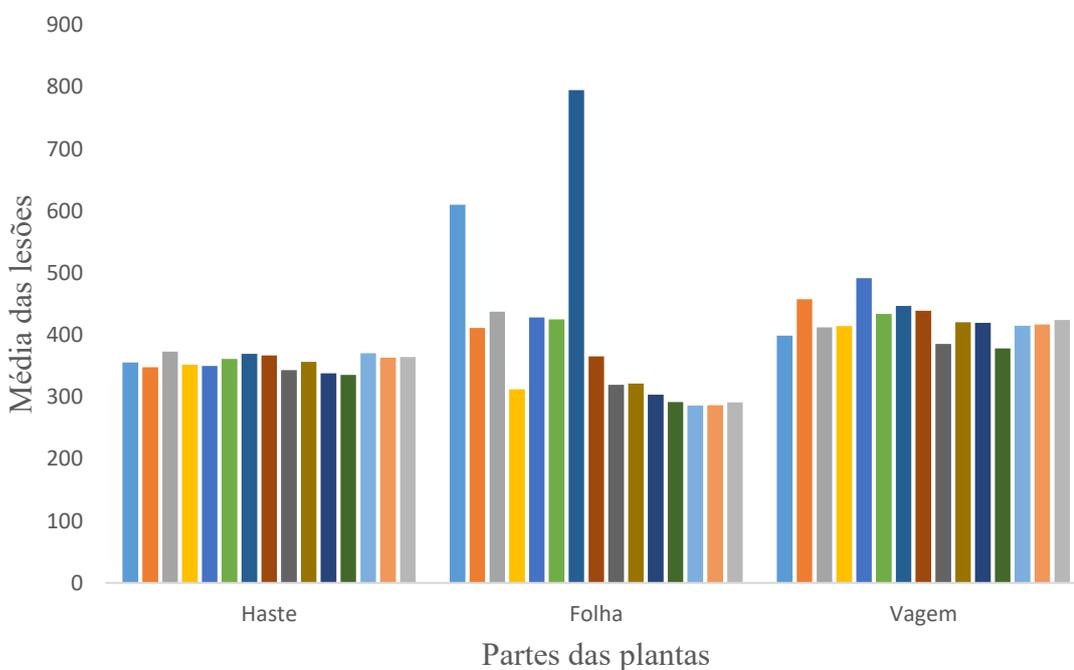
Isolados	Haste	Folha	Vagem
Passo Fundo - RS	35,38 a	60,88 b	39,99 d
Passo Fundo - RS	34,87 b	41,02 c	45,56 b
Passo Fundo - RS	37,90 a	43,58 c	41,33 c
Passo Fundo - RS	35,10 b	31,18 d	41,46 c
Brasília - DF	35,11 b	42,24 c	49,79 a
Brasília - DF	36,09 a	42,02 c	43,75 b
Brasília - DF	36,53 a	79,99 a	44,78 b
Brasília - DF	36,06 a	36,55 c	43,79 b
Urutaí - GO	34,06 b	31,56 d	38,44 d
Urutaí - GO	35,72 a	32,65 d	42,39 c
Urutaí - GO	33,94 b	30,40 d	41,60 c
Urutaí - GO	33,46 b	29,60 d	37,02 d
Urutaí - GO	37,55 a	28,30 d	41,00 c
Urutaí - GO	36,41 a	28,60 d	41,84 c
Urutaí - GO	36,30 a	29,28 d	42,16 c
Média Geral	35,50	39,32	43,59
CV(%):	35,38 a	60,88 b	39,99 d
KS	0,200*	<0,000	<0,000
Levene	0,002	<0,000	0,003

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 0,05 de significância, KS pressuposições dos testes Kolmogorov-Smirnov e Levene.

Na haste os isolados que apresentaram menor lesão (Figura 6) e que diferiram estatisticamente das demais foram os isolados de Passo Fundo-RS, Brasília-DF e Urutaí-GO foram menos agressivos se comparados aos demais, com lesões de 33,46 a 35,10 mm de comprimento. O mais agressivo produziu lesões de 35,38 a 37,55 mm de comprimento.

Na folha o isolado mais agressivo foi o isolado de Brasília-DF a lesão chegou a 79,99 mm de comprimento, sendo seguidos pelos isolados de Passo Fundo-RS, Brasília-DF e Urutaí-GO. Na vagem o mais agressivo foi o isolado Brasília-DF a lesão chegou a 41,79 mm de comprimento e os menos agressivos foram os isolados Passo Fundo-RS e Urutaí-GO, respectivamente (Tabela 3, Figura 5, 6).

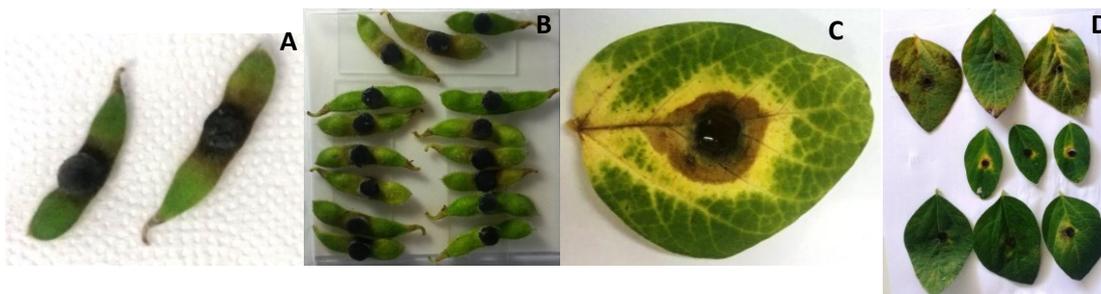
**Figura 5.** Médias das lesões em diferentes partes da planta.



O período de incubação e a umidade são componentes importantes para muitos patógenos foliares, incluindo *Colletotrichum* spp. (Manandhar et al., 1988) Períodos de incubação mais longos após a inoculação contribui para a gravidade da antracnose. Os resultados foram semelhantes aos de um estudo anterior, que mostrou que um período mais longo de umidade causou sintomas de antracnose mais graves em plantas de soja inoculadas pelo método da folha destacada (Yang et al., 2015). Embora não tenha feito parte deste estudo, presume-se que o aumento da duração da umidade beneficiou o fungo diretamente, permitindo um período mais longo de condições ideais para fungos

crescimento, ou indiretamente, aumentando a suscetibilidade das plantas ao patógeno. (Figura 6).

**Figura 6.** Isolados de *Colletotrichum truncatum* inoculados em vagens e folhas de soja cultivar BMX “DESAFIO”. **A.** vagens do isolado de Passo Fundo-RS, representado os sintomas da antracnose, **B.** vagens inoculadas com o isolado de Brasília-DF. Folha inoculada com isolado Urutaí-GO (**C**) e isolado Brasília-DF (**D**).



A ocorrência de sintomas de antracnose na folha é relativamente comum em genótipos altamente suscetíveis (Pereira et al., 2014). Tu (1986) e Bigirmana & Höfte (2001) concluíram que o uso de folhas primárias destacadas e trifolioladas destacadas mostraram-se uma técnica de seleção eficiente. Em trabalho realizado por Pereira e colaboradores (2014) para a raça 453 de *C. lindemuthianum*, as cultivares Ouro Vermelho e Rudá apresentaram, em alguns casos, maiores escores médios de severidade da antracnose quando inoculadas em folhas destacadas, porém não houve diferenças na classificação das cultivares em suscetíveis ou resistentes. Souza et al. (2009) testaram a resistência do feijão comum a *Uromyces appendiculatus* em folhas destacadas e descobriram que os sintomas de ferrugem foram mais precoces e agressivos em folhas destacadas do que em plantas inoculadas. Neste caso, porque *U. appendiculatus* é um patógeno obrigatório, possíveis diferenças entre os métodos de inoculação podem ser devido a fatores fisiológicos envolvidos na interação patógeno-hospedeiro.

Pesquisadores apontaram várias vantagens do uso da metodologia de folhas destacadas entre elas: uma mesma planta pode ser caracterizada de acordo com a reação a diferentes raças de um determinado patógeno ou mesmo pela reação a diferentes patógenos; os resultados são obtidos e as plantas mantidas vivas, podendo até produzir sementes, que podem ser de interesse em diversos tipos de estudos; plantas com mais de um gene de resistência a um patógeno específico podem ser identificadas. Além disso, essa técnica evita uma possível interação entre raças do mesmo patógeno ou diferentes patógenos e pode reduzir custos e tempo de trabalho (Tu, 1986; Souza et al. 2009).

Geralmente, os estudos envolvendo a inoculação de folhas destacadas têm sido realizados em salas climatizadas ou câmaras BOD, bem como em placas de Petri e, em alguns casos, as folhas são cultivadas em ágar, soluções de sacarose ou outras soluções nutritivas, dificultando todo o processo e muito caro. Neste trabalho, demonstramos a lesão do fungo em diferentes partes da planta de soja. Os resultados obtidos na caracterização patogênica contribuem para a melhor compreensão da epidemiologia da doença, sendo úteis também para distinção dos agentes causais e para o desenvolvimento e/ou recomendação de medidas de controle.

Em trabalhos realizados por Afroz et al. (2019) utilizaram três métodos de inoculação diferentes e eles comprovaram que o método da folha destacada é o mais eficiente, simples e rápido. Essa variabilidade pode estar relacionada com a alta capacidade de adaptação climática desses isolados.

### CONCLUSÕES

- 1 – Houve variação quanto às características morfológicas e culturais dos isolados de *C. truncatum*.
- 2- A área da lesão é um indicativo direto da agressividade do patógeno e a susceptibilidade do hospedeiro.
- 3 – A cultivar “Desafio” é susceptível antracnose.

### REFERÊNCIAS

- ANDRADE, E.; UESUGI, C.; UENO, B.; FERREIRA, M. Morphocultural and molecular characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates pathogenic to papaya. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 21-31, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582007000100003>.
- AFROZ, T.; LEE, H. S.; JEON, Y. A.; SUNG, J. S.; RHEE, J. H.; ASSEFA, A. D.; NOH, J.; HWANG, A.; HUR, O. S.; RO, N. Y.; LEE, J. L.; LEE, M. C. Evaluation of Different Inoculation Methods for Screening of *Sclerotinia* rot and *Phytophthora* blight in Perilla Germplasm. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 22, n. 2, p. 177 – 183, 2019. DOI: 10.1007/s12892-019-0115-0.
- BIGIRMANA, J.; HÖFTE, M. Antracnose de feijão: métodos de inoculação e influência do estágio da planta na resistência de cultivares de *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Phytopathology**, v. 149, p.403-408, 2001.
- CANNON, P. F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P.R.; WEIR, B. S. *Colletotrichum* – current status and future directions. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 181-213, 2012.

CASTELANI, O, RIBEIRO, L. V., FERNANDES, J. F. Differentiation of *Tripanossoma cruzi* in culture. **The Journal of Protozoology**, v. 14, n.3, p. 447-451, 1967.

CHAMBERS, J.; CLEVELANDM, W.; KLEINER, B.; TUKEY, P. (1983) **Graphical methods for data analysis**. Wadsworth e Brooks/Cole, Pacific Grove.

DAMM, U., WOUDEBERG, J.H.C., CANNON, P.F.; CROUS, P.W. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 45-87, 2009.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p.1039-1042, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542009000700059>.

FORD, R.; BANNINZA, C.; PHOTITA, W.; TAYLOR, P. W. J. Morphological and molecular discrimination of *Colletotrichum truncatum* causing anthracnose on lentil in Canada. **Australasian Plant Pathology**, v.33, p. 559-569, 2004.

FREEMAN, S.; KATAN T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, v. 82, n. 6, p. 596-605, 1998. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.6.596>.

GODOY, C. V.; ULTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C. B.; BORGES, E. P.; ANDRADE JR, C. R.; SIQUERI, F. V.; JULIATTI, F. C.; FEKSA, H. R.; GRIGOLLI, J. F. J.; JUNIOR, J. D.; CARNEIRO, L. C.; SILVA, H. C. P.; SATO, L. N.; CANTERI, M. G. VOLF, M. R. DEBORTOLI, M. P. GOUSSAIN, M.; MARTINS, M.C.; BALARDIN, R. S.; FURLAN, S. H.; MADALOSSO, T.; CARLIN, V. J.; VENANCIO, W. S. Eficiência de fungicidas para o controle de ferrugem-asiática da soja, *Phakospora pachyrhizi*, na safra 2015/2016: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. **Circular Técnica 119, EMBRAPA SOJA**, p. 1-6, 2016.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importação e controle**. 2ed. rev. e ampliada. Brasília, DF. Embrapa, 2018.

HYDE, K. D.; CAI, L.; CANNON, P. F.; CROUCH, J. A.; CROUS, P. W.; DAMM, U.; GOODWIN, P. H.; CHEN, H.; JOHNSTON, P. R.; JONES, E. B. G.; LIU, Z. Y.; MCKENZIE, E. H. C.; MORIWAKI, J.; NOIREUNG, P., PENNYCOOK, S. R., PFENNING, L. H.; PRIHASTUTI, H., SATO, T; SHIVAS, R. G., TAN, Y. P.; TAYLOR, P. W. J.; WEIR, B. S.; YANG, Y. L.; ZHANG, J. Z. *Colletotrichum* – Names in current use. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 147-182, 2009.

LENNÉ, J.M., **Studies on the biology and taxonomy of *Colletotrichum* species**. PhD Thesis, University of Melbourne, Australia, 1978.

MANANDHAR, J. B., HARTMAN, G. L., SINCLAIR, J. B. Soybean germ plasm evaluation for resistance to *Colletotrichum truncatum*. **Plant Disease**, v. 72, p. 56-59, 1988.

- MENEZES, M.; HANLIN, R.T. Apressoria of brazilian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of anthracnose diseases. **Revista de Microbiologia** v. 27, p. 247- 251, 1996.
- MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciências Agrônomicas**, v. 3, n. 3, p. 170-179, 2006.
- PEREIRA, A. C.; PAULA, R. G.; PAULA-JÚNIOR, T. J.; SILVA, L. C.; CARNEIRO, J. E. S.; CARNEIRO, P. C. S. Selection of anthracnose resistant common beans using detached leaves in partially controlled environment. **Revista Ceres**, v. 61 n. 4, 2014. DOI: 10.1590/0034-737X201461040010.
- PESQUEIRA, A. S.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Fungicide association in the control of anthracnose in the soybean in Mato Grosso do Sul. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, p. 203-212, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160024>.
- ROGÉRIO, F.; CIAMPI-GUILLARDI, M.; BARBIERI, M. C.; BRAGANÇA, C.A.; SEIXAS, C. D.; ALMEIDA, A. M.; MASSOLA, N. S. JR. Phylogeny and variability of *Colletotrichum truncatum* associated with soybean anthracnose in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 2, p. 402-415, 2017. DOI:10.1111 / jam.13346.
- ROGÉRIO, F.; GLADIEUX, P.; MASSOLA, N.; CIAMPI-GUILLARDI, M. Multiple introductions without admixture of *Colletotrichum truncatum* associated with soybean anthracnose in Brazil. **Phytopathology**, v. 4, n. 4, p. 681-689, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-18-0321-R>.
- SHANER, G.; FINLEY, R. F. The effects of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing in know wheat. **Phytopathology**, v. 70, p. 1183-1186, 1977.
- SINCLAIR, J. B.; HARTMAN, G. L. Soybean diseases. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Ed.). **Compendium of soybean diseases**. 4 ed., Minnesota: APS, p. 3-4, 2008.
- SOUZA, T. L. P. O.; RAGAGNIN, V. A.; SANGLARD, D. A.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E.G. Teste de resistência ao *Uromyces appendiculatus* por meio da inoculação do patógeno em folhas destacadas do feijoeiro. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 31, n. 2, p. 197-201, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1807-86212009000200002>.
- STRACIERI, J.; PEREIRA, F. D.; SILVEIRA, A. L.;MAGALHAES, H. M.; GOES, A. Morphocultural and molecular characterization of papaya tree *Colletotrichum* spp **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 19, p. 1755-1764, 2016. DOI: 10.5897 / AJAR2016.10868.
- SUTTON, B.C. **The Coelomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute. 696p, 1980.

SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: *Colletotrichum* Biology, Pathology and Control. (Bailey JA, Jeger MJ, eds). CAB International, Wallingford, p. 1–26, 1992.

TOZZE JUNIOR, H. J.; MELLO, B. A.; MASSOLA-JUNIOR, N. S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanaceas. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 1, p. 77-79, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052006000100011>.

TOZZE JÚNIOR, H. J. Caracterização e identificação de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose do pimentão (*Capsicum annuum*) no Brasil. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba. 81p, 2007.

TOZZE JÚNIOR, H. J.; FIRMINO, A. C.; FISCHER, I. H.; FURTADO, E. L., MASSOLA, N. S. Caracterização de isolados de *Colletotrichum* spp. associados às frutíferas no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathology**, v. 41, n. 4, p. 270-280, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2021>.

TU, J. C. A detached leaf technique for screening beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in vitro against anthracnose *Colletotrichum lindemuthianum*. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 66, p. 805-809, 1986.

VASCONCELOS, C. V.; PEIXOTO, G. H. S.; MUNIZ, P. H. P. C.; OLIVEIRA, T. A. S.; DUARTE, E. A. A.; CARVALHO, DANIEL DIEGO C. Etiologia e sintomatologia de *Colletotrichum acutatum* em frutos de *Solanum gilo*: uma breve revisão. **Revista de Biotecnologia & Ciência**, v. 7, n. 1, p. 41-49, 2018.

YANG, H. C.; HARTMAN, G.L. Methods and evaluation of soybean genotypes for resistance to *Colletotrichum truncatum*. **Plant Disease**, v. 99, n. 1, p. 143-148, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-14-0228-RE>.

## CAPÍTULO II

CRESCIMENTO MICELIAL DE DIFERENTES ISOLADOS DE ISOLADOS

*Colletotrichum truncatum* EM DIFERENTES TEMPERATURAS

## CRESCIMENTO MICELIAL DE DIFERENTES ISOLADOS DE ISOLADOS

### *Colletotrichum truncatum* EM DIFERENTES TEMPERATURAS

#### RESUMO

A soja (*Glycine max* L.) é uma das mais importantes culturas do agronegócio do Brasil com uma área combinada de 49,3 milhões de ha e somam mais de 50% da produção mundial do grão. Entre os fatores que limitam a obtenção de altos rendimentos da cultura da soja estão as doenças. A antracnose é uma das principais doenças da cultura sendo causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*. A temperatura é um fator ambiental capaz de influenciar a intensidade das doenças de plantas. Desta forma, o presente trabalho apresenta um estudo do efeito da temperatura no crescimento micelial de uma coleção de 23 isolados de *C. truncatum*, provenientes de diversas regiões produtoras de soja no Brasil (GO, MG, TO, DF, RS). Utilizando-se a microscopia de luz encontradas variações quanto às características morfológicas e morfométricas, crescimento micelial, coloração, aspecto e zona de crescimento de colônias. Os discos de micélio dos 23 isolados de *C. truncatum* com 7 mm de diâmetro com meio de cultura BDA foram transferidos para placas de Petri contendo aproximadamente 20 mL de meio BDA. As placas foram submetidas à incubação com temperatura de 20°; 25°; 27°; 32°; e 35°C, sob fotoperíodo de 12 h, durante sete dias em BOD. A avaliação do crescimento micelial foi feita pela medição, a cada 24 h, registrando-se o diâmetro em milímetros das colônias em posição ortogonal, durante sete dias a partir do momento em que foram colocados os discos de micélio contendo o isolado. As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico R. As variáveis significativas no teste F da análise de variância foram submetidas ao teste de médias e à análise de regressão. Os isolados apresentaram comportamento diferenciado na velocidade de crescimento micelial com capacidade adaptativa em diferentes temperaturas.

**Palavras-chave:** Identificação, Antracnose. Soja, *Glycine max*. Temperatura, Morfologia, Epidemiologia.

## MICELIAL GROWTH OF DIFFERENT ISOLATES FROM *Colletotrichum truncatum* ISOLATES IN DIFFERENT TEMPERATURES

### ABSTRACT

Soy (*Glycine max* L.) is one of the most important agribusiness crops in Brazil with a combined area of 49.3 million ha and accounts for more than 50% of the world's grain production. Among the factors that limit the achievement of high soybean yields are diseases. Anthracnose is one of the main diseases of the crop being caused by the fungus *Colletotrichum truncatum*. Temperature is an environmental factor capable of influencing the intensity of plant diseases. Thus, the present work presents a study of the effect of temperature on the mycelial growth of a collection of 23 isolates of *C. truncatum*, from different soybean producing regions in Brazil (GO, MG, TO, DF, RS). Using light microscopy, variations were found in terms of morphological and morphometric characteristics, mycelial growth, color, appearance and zone of growth of colonies. The mycelium discs of the 23 isolates of *C. truncatum* with 7 mm in diameter with BDA culture medium were transferred to Petri dishes containing approximately 20 mL of BDA medium. The plates were subjected to incubation at a temperature of 20°; 25°; 27°; 32°; and 35°C, under 12 h photoperiod, for seven days in BOD. The evaluation of mycelial growth was made by measuring, every 24 h, recording the diameter in millimeters of the colonies in an orthogonal position, for seven days from the moment the mycelium discs containing the isolate were placed. Statistical analyzes were performed in the statistical program R. The significant variables in the F test of the analysis of variance were subjected to the means test and to the regression analysis. The isolates showed different behavior in the speed of mycelial growth with adaptive capacity at different temperatures.

**Keywords:** Identification. Temperature. Morphology. Epidemiology. Anthracnose. Soy.

## 1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma leguminosa, pertence à família das Fabaceae, seu centro de origem é a Ásia, e pode ser produzida em várias regiões do planeta (Juhász et al., 2014; Embrapa Soja, 2021). É uma das principais commodities agrícolas com alta relevância econômica no mundo (Pesqueira et al., 2016), tanto em termos de área cultivada (38,2 milhões de hectares) (Conab, 2020), quanto com a participação marcante em nutrição humana (Cunha et al., 2015) e animal (Zuntini et al.; 2019), recentemente vem crescendo seu uso como fonte alternativa de biocombustível (Freitas, 2011) e o Brasil ocupa o primeiro em exportação (Kohlhepp, 2010; Freitas; Santos, 2017).

No Brasil, aproximadamente 40 doenças ocorrem nas lavouras de soja, sendo essas causadas por fungos, bactérias, nematoides ou vírus (Sinclair; Hartman, 2014). É importante salientar que esse número teve um crescimento devido à monocultura em algumas regiões produtoras, pois estão em constante risco da introdução de novos patógenos no país e expansão das áreas produtoras (Matsuo et al., 2015).

Os fatores abióticos como temperatura, umidade, luminosidade, vento, chuva e bióticos como fatores genéticos, sanidade, pragas e doenças prejudicam o desempenho produtivo das plantas em condições de campo (Tecnologias..., 2014). Dentre os fatores bióticos que atacam a cultura da soja destacam-se as doenças que, de forma geral, ocasionam perdas significativas nas plantas de soja (Juliatti et al., 2004; Lemes; Gavassoni, 2015) reduzindo o seu potencial produtivo em até 90% (Souza et al., 2015), as doenças causadas por fungos ocorrem em proporções maiores, quando comparadas com outros organismos que causam doenças, como por exemplo, vírus (Vida et al., 2004). A antracnose causada por um fungo *Colletotrichum* sp. é uma doença fúngica, que causa prejuízo em regiões de cultivo de soja, sendo um relevante problema no cerrado brasileiro (Godoy et al., 2016).

A antracnose atinge disseminação vasta e rápida em regiões quentes e úmidas, onde a temperatura é mais elevada e as chuvas intensas e frequentes como na região do cerrado (Embrapa, 2010). A antracnose sob condições de alta umidade, causa apodrecimento e queda das vagens, abertura das vagens e germinação dos grãos em formação. O patógeno infecta a haste causando manchas castanho-escuras e a base do pecíolo que causa perdas severas na soja (Pesqueira et al., 2016).

A antracnose é favorecida por chuvas frequentes e temperaturas entre 25 e 35° C (Galli et al., 2007), porém outros fatores como a monocultura e estreitamento entre linhas, uso de sementes infectadas, deficiências nutricionais e infestação por menor espaço entre as linhas de pervejo contribuem para a incidência ou para o desenvolvimento da doença. (Adami et al., 2006).

O ambiente é um dos fatores responsáveis por maiores taxas de progresso de epidemias de doenças de plantas e pode atuar na suscetibilidade do hospedeiro e na virulência do patógeno. Os principais fatores ambientais citados são a temperatura, a pluviosidade, a umidade relativa do ar, a intensidade luminosa e a concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico entre outras (Luck et al., 2011). A temperatura pode influenciar diretamente a virulência dos patógenos, pois as enzimas respondem aos mais diversos estádios metabólicos do ciclo de vida dos patógenos fúngicos e apresentam uma temperatura ótima para realizar as suas funções durante a infecção (Dias et al., 2005). Com isso, a intensidade do ataque do patógeno pode ser influenciada pela temperatura.

Com base no exposto, o objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito da temperatura no crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum truncatum*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí. Os isolados de *Colletotrichum truncatum* foram oriundos de lavouras de diversas regiões produtoras de soja no Brasil. (Tabela 1).

### 2.1 Coleta dos isolados *Colletotrichum truncatum*

Os isolados de *Colletotrichum truncatum* foram obtidos a partir de folhas, hastes, pecíolos e vagens de plantas de soja que apresentam sintomas da doença, (Tabela 1). Para obtenção de culturas, será empregado o método de isolamento indireto, no qual fragmentos de tecidos doentes, após desinfestação superficial com álcool 70% durante um minuto, hipoclorito de sódio a 2% por 30 segundos e posteriormente em água destilada e esterilizada, foram transferidos para placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo o meio BDA (Batata Dextrose Ágar). As placas foram mantidas em incubadoras a 25°C ± 2°C com fotoperíodo 12 h por sete dias. Após esse período as colônias foram repicadas para novas placas de Petri com meio BDA e incubadas por igual período para posterior obtenção das culturas puras.

**Tabela 1** - Características culturais das colônias de isolados de *Colletotrichum truncatum* provenientes das regiões DF, GO, MG e RS.

<b>Isolados</b>	<b>Origem</b>	<b>Colônia</b>	<b>Massa de esporos</b>	<b>Reverso</b>	<b>Morfologia da colônia</b>
1	Passo Fundo - RS	Cinza escura	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
2	Passo Fundo - RS	Cinza escura	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
3	Passo Fundo - RS	Cinza claro	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
4	Passo Fundo - RS	Cinza claro	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
5	Brasília - DF	Cinza claro	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
6	Brasília - DF	Cinza claro	Alaranjada	Cinza escuro	Irregular
7	Brasília - DF	Cinza escura	Bege	Cinza escuro	Irregular
8	Brasília - DF	Alaranjado	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
9	Urutaí - GO	Branco acinzentada	Ausente	Cinza escuro	Regular
10	Urutaí - GO	Branco acinzentada	Ausente	Cinza escuro	Regular
11	Urutaí - GO	Branco acinzentada	Bege	Cinza escuro	Regular
12	Urutaí - GO	Branco acinzentada	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
13	Urutaí - GO	Cinza claro	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
14	Urutaí - GO	Cinza claro	Ausente	Cinza escuro	Regular
15	Urutaí - GO	Cinza escura	Alaranjada	Cinza escuro	Regular
16	Uberlândia-MG	Cinza claro	Alaranjada	Cinza escuro	Irregular
17	Urutaí - GO	Cinza escura	Alaranjada	Cinza escuro	Irregular
18	Edeia-GO	Branco acinzentada	Alaranjada	Cinza escuro	Irregular
19	Uberlândia-MG	Cinza escura	Bege	Cinza escuro	Irregular
20	Uberlândia-MG	Cinza escura	Ausente	Cinza escuro	Regular
21	Uberlândia-MG	Cinza escura	Ausente	Cinza escuro	Regular
22	Uberlândia-MG	Cinza escura	Ausente	Cinza escuro	Regular
23	Uberlândia-MG	Cinza escura	Alaranjada	Cinza escuro	Regular

## 2.2 Obtenção das culturas puras e manutenção

Para a obtenção das culturas monospóricas foram preparadas uma suspensão de esporos distribuída com alça de Drigalsky sobre placas de Ágar-Água as quais foram incubadas por 24 h a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Esporos germinados foram transferidos isoladamente para placas de Petri contendo BDA. As placas foram incubadas conforme já descrito. Os isolados monospóricos foram mantidos em água estéril e armazenados em condição ambiente segundo a metodologia de Castellani et al. (1967).

## 2.3 Avaliação do crescimento micelial em diferentes temperaturas

Para o teste do efeito da temperatura, 20 mL de meio de cultura BDA ainda fundente foi vertido em placas de Petri de 9 cm previamente esterilizadas. Após 11 dias de crescimento das colônias purificadas, um disco de 8 mm de diâmetro, contendo o micélio de *C. truncatum* foi depositado no centro de cada placa. As placas contendo o material biológico foram seladas com papel aderente, identificadas e submetidas às temperaturas de 20, 25, 27, 32 e  $35^{\circ}\text{C}$ , com fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias em B.O.D. conforme o método de Grigoletti Júnior (1999). A avaliação do experimento iniciou às 24h após a incubação, realizando-se medições ortogonais do diâmetro das colônias diariamente, por sete dias, sendo que cada medição correspondeu à média de duas medidas diametralmente opostas da colônia fúngica, tendo como referência as placas testemunhas. Os dados obtidos nessa avaliação foram utilizados para calcular o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) conforme a fórmula utilizada por Dias et al. (2005). A partir dessa integralização onde X foram os dias após a incubação e Y o diâmetro da colônia (subtraído do disco de micélio), calculou-se área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM), integralizando a curva de progresso para cada dosagem e/ou isolado (diâmetro da colônia x DAI), por meio da fórmula:

$$\text{AUDPC} = \sum \left( \frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} \right) \times (t_{i+1} - t_i)$$

Onde, n é o número de avaliações do diâmetro da colônia,  $X_i$  é o diâmetro da colônia (mm) e  $(t_{i+1} - t_i)$  é o número em dias entre as avaliações consecutivas (Shanner e Finlay, 1978). O valor da AACPCM sintetiza todas as avaliações de severidade em um único valor.

## 2.4 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições em esquema fatorial, constituído por vinte e três isolados e cinco temperaturas. As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico R. As variáveis significativas no teste F da análise de variância foram submetidas ao teste de médias e à análise de regressão.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Avaliação do crescimento micelial em diferentes temperaturas

Os isolados de Uberlândia-MG apresentaram os menores crescimentos, com as menores AACPM à temperatura de 20 °C. Nas condições climáticas de Goiás, esses isolados não encontram condição favorável para o desenvolvimento da doença, pois a temperatura média é diferente. Na temperatura de 25 °C, os que tiveram os melhores resultados foram os isolados Passo Fundo-RS, Urutaí-GO, Uberlândia e Brasília-DF os que tiveram o menor crescimento foram os isolados Passo Fundo-RS e Brasília-DF. Na temperatura de 27° C os que tiveram um melhor crescimento foram isolados Urutaí-GO, Edeia-GO e Uberlândia-MG. O isolado Urutaí-GO apresentou bom crescimento nas temperaturas, 25, 27, 32 e 35 °C (Tabela 2).

Todos os isolados nas temperaturas 32 e 35°C, não diferiram estatisticamente quanto ao crescimento micelial. Segundo Tandon e Chandra (1962), um bom crescimento micelial está associado a uma boa esporulação. No presente estudo foi verificado que alguns isolados apresentaram boa produção de conídios, aliada a elevado crescimento em meio sólido, confirmando os dados dos autores mencionados.

Houve interação significativa entre a temperatura e os isolados para o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM). A temperatura ótima para o maior IVCM dos diferentes isolados variou entre 25°C e 30°C (Figura 2). Para a maioria das espécies de *Colletotrichum* a temperatura ideal para o crescimento vegetativo está entre a faixa de 25° C a 30° C (Sutton, 1992), os resultados corroboram com o do autor citado (Figura 2). Pimenta (2009) estudando diferentes isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* obtidos de mangueira verificou que para a temperatura de 25 °C ocorria o melhor desenvolvimento do fitopatógeno.

Tozze Junior et al. (2006), verificaram ao analisar o crescimento de colônias de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* obtidos de solanáceas, que o melhor

desenvolvimento das colônias ocorreu na faixa de temperatura entre 25° C e 28°C. Smith e Black (1990) observaram isolados de *C. acutatum* e *C. gloeosporioides* submetidos a 28 e 32 °C, os quais puderam ser diferenciados após 5 dias conforme sua velocidade de crescimento.

**Tabela 2:** Médias das diferentes temperaturas da área abaixo da curva de crescimento progresso micelial (AACPM) de diferentes isolados de *Colletotrichum truncatum* analisados (sete dias de incubação).

Isolados	Temperaturas				
	20 °C	25 °C	27 °C	32° C	35° C
Passo Fundo - RS	604,40 a	498,20 b	399,00 d	507,00 a	603,20 a
Passo Fundo - RS	583,20 a	443,37 d	427,50 c	494,10 a	582,20 a
Passo Fundo - RS	577,15 a	509,00 b	387,16 d	518,55 a	576,95 a
Passo Fundo - RS	599,10 a	528,20 a	438,70 c	527,10 a	599,10 a
Brasília - DF	568,80 a	478,30 c	432,16 c	479,20 a	568,40 a
Brasília - DF	587,30 a	544,25 a	433,70 c	511,30 a	587,30 a
Brasília - DF	584,30 a	501,90 b	459,70 b	525,20 a	584,30 a
Brasília - DF	586,10 a	496,60 b	374,37 d	498,00 a	586,10 a
Urutaí - GO	584,70 a	507,50 b	430,00 c	499,80 a	584,70 a
Urutaí - GO	603,60 a	506,30 b	495,10 a	496,90 a	603,60 a
Urutaí - GO	591,00 a	525,50 a	403,33 d	520,00 a	591,00 a
Urutaí - GO	586,20 a	528,60 a	437,20 bs	515,10 a	586,20 a
Urutaí - GO	603,50 a	513,40 b	478,80 a	513,87 a	600,20 a
Urutaí - GO	600,90 a	534,80 a	489,90 a	505,60 a	602,60 a
Urutaí - GO	568,50 a	544,70 a	454,00 b	501,50 a	568,10 a
Uberlândia-MG	604,40 a	501,90 b	374,37 d	479,20 a	603,20 a
Urutaí - GO	427,50 b	496,60 b	430,00 c	511,30 a	582,20 a
Edeia-GO	577,15 a	507,50 b	495,10 a	525,20 a	576,95 a
Uberlândia-MG	599,10 a	506,30 b	403,33 d	498,00 a	599,10 a
Uberlândia-MG	568,80 a	525,50 a	437,20 c	499,80 a	568,40 a
Uberlândia-MG	433,70 b	528,60 a	478,80 a	496,90 a	587,30 a
Uberlândia-MG	459,70 b	513,40 b	489,90 a	520,00 a	584,30 a
Uberlândia-MG	366,70 c	534,80 a	454,00 b	515,10 a	586,10 a
CV(%)	4,89				

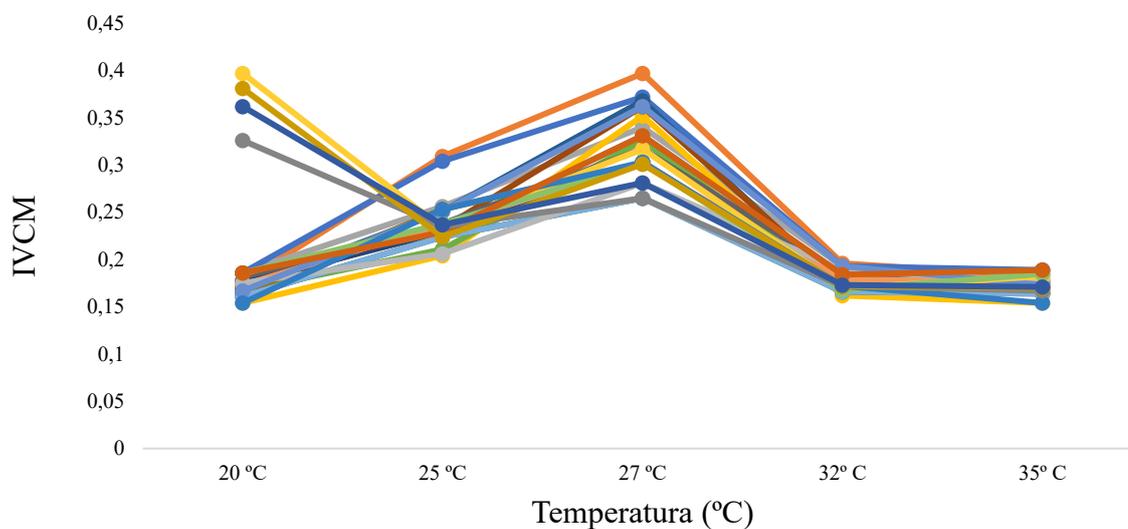
De acordo com Tozze Júnior (2015), nas análises realizadas com base no crescimento médio das colônias em diferentes temperaturas, foi observada a existências de padrões distintos entre hospedeiros, o que ficou evidente quando o autor comparou a taxa de crescimento das colônias de um mesmo isolado quando cultivada a 35 °C com as cultivadas a 25° C. Sangeetha; Rawal, usar a mesma norma para os autores (2009), notou que todos os isolados de *C. gloeosporioides* independente da região tiveram crescimento entre 20 e 30° C, faixa adequada para seu crescimento, e que não corrobora com o de Tozze Júnior e colaboradores (2015). No presente estudo a temperatura ótima para as maiores taxas de crescimento micelial dos isolados de *C. truncatum* variou de 25 a 27 ° C, semelhante a faixa de crescimento ótimo para *C. gloeosporioides*.

Em trabalhos realizados por Poltronieri (2013), com isolados de *C. gloesporioides* de juçara, observou que o índice de velocidade de crescimento micelial foi na temperatura de 28°C, seguida pela temperatura de 25 °C. Dias et al. (2005) em seus estudos observou que as temperaturas de 22 °C a 28 °C, influenciaram no crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum* sp. associados ao cafeeiro (*Coffea arabica* L.), obtidos de diferentes regiões produtoras. Batista (1983) em seus estudos com frutos de manga infectados por *C. gloesporioides*, relata que a temperatura de 28° C foi a mais favorável às infecções do patógeno em frutos de manga. Os resultados mostram que o crescimento em diferentes faixas de temperatura pode ser um critério útil na separação de espécie de *Colletotrichum*.

Maia et al. (2011) não verificaram diferenças de três isolados de *Colletotrichum* associados à mangueira (*Mangifera indica* L.), quanto ao crescimento micelial, em função da temperatura, vale salientar, os três isolados testados foram obtidos no mesmo município. Resultados do trabalho realizado por Teramoto et al. (2013) também concordam com os dados obtidos no presente ensaio. Segundo os autores citados, isolados de *Corynespora cassicola*, agente etiológico da mancha alvo da soja, obtidos de diferentes hospedeiros e regiões tem diferenças no crescimento micelial em função da temperatura. O crescimento máximo foi obtido entre 23,3 °C a 29,5 °C.

Feitosa et al. (1977) determinaram, por meio de equação do segundo grau, a temperatura de 28°C como o ponto de máximo crescimento para isolados de *Colletotrichum* sp. provenientes do cafeeiro. Os dois últimos autores observaram o incremento no crescimento com a elevação da temperatura até 28°C, e a temperatura ótima de crescimento também dependeu do isolado, ocorrendo entre 25°C e 30 °C. Nos isolados avaliados, a temperatura ótima foi de 27°C (Figura 2).

**Figura 2.** Índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM), em relação à temperatura de crescimento micelial dos isolados de *Colletotrichum truncatum* oriundos de diferentes hospedeiros.



As temperaturas de 20 e 35°C encontram-se próximas à limitrofe para o crescimento dos isolados, por causar redução drástica no crescimento micelial (Figura 2); no entanto, essas temperaturas não foram responsáveis por matar o patógeno.

Conhecer a temperatura ideal de crescimento de determinado isolado fúngico pode favorecer a inoculação de experimentos e estes dados podem ser aplicados ao manejo de forma mais precisa. A antracnose é uma importante doença da soja, entretanto, não são encontrados, na literatura, trabalhos sobre a temperatura ideal de crescimento de isolados e a virulência dos mesmos.

#### 4 CONCLUSÕES

1 - A temperatura de 27°C proporcionou maior crescimento micelial de *C. truncatum*.

2 - A temperatura proporcionou efeito significativo no crescimento micelial de isolados de *C. truncatum* provenientes de diferentes regiões do Brasil e estes, quando crescidos na sua temperatura ideal são virulentos em soja.

3 - A caracterização fisiológica de isolados permite o reconhecimento de condições de influência das temperaturas de campo no metabolismo fisiológico e colonização no tecido hospedeiro.

## REFERÊNCIAS

ADAMI, P.; SANTOS, I.; FRANCHIN, M.; SARTOR, L.; TARTARO, D.; NUNES, E.; XAVIER, F. Eficiência de fungicidas no controle da antracnose (*Colletotrichum dematium* var. *truncata*) da soja (*Glycine max*). **Sinergismus Scyentifica**, UTFPR, v. 1, p. 22-28, 2006.

ALMEIDA, L. B.; MATOS, K. S.; ASSIS, L. A. G.; HANADA, R. E.; SILVA, G. F. First report of Anthracnose of *Capsicum chinense* in Brazil caused by *Colletotrichum brevisporum*. **Plant Disease**, v. 101, n. 6, p. 1035, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-17-0099-PDN>.

ALVES, M. DE C.; POZZA, E. A.; FERREIRA, J. B.; ARAÚJO, D. V.; COSTA, J. C. B.; DEUNER, C. C.; MUNIZ, M. F. S.; ZAMBENEDETTI, E. B.; MACHADO, J. C. Intensidade da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrizi* H. Sydow & P. Sydow) da soja (*Glycine max* L.) Merr.) nas cultivares Conquista, Savana e Suprema sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 239-244, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052007000300005>.

ARAÚJO, D. V.; POZZA, E. A.; MACHADO, J. C.; ZAMBENEDETTI, E. B.; CELANO, F. A. O.; CARVALHO, E. M.; CAMARGOS, V. N. Influência da temperatura e do tempo de inoculação das sementes de algodão na transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 35-40, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582006000100006>.

AUYONG, A. S. M.; FORD, R.; TAYLOR, P. W. J. The role of cutinase and its impact on pathogenicity of *Colletotrichum truncatum*. **Plant Pathology and Microbiology**. v. 6, n. 3, p. 1-11, 2015. DOI: 10.4172/2157-7471.1000259.

BATISTA, M. F. **Doenças do Guaranazeiro**. Manaus: EMBRAPAUEPAE, 1983. 27p. (Circular Técnico, 9).

BYRNE, J. M.; HAUSBECK, M. K.; MELOCHE, C.; JAROSZ, A. M. Influence of dew period and temperature on foliar infection of greenhouse-grown tomato by *Colletotrichum coccodes*. **Plant Disease**, v. 82, n. 6, p. 639-641, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.6.639>.

CARDOSO, T. H. S.; FREITAS, A. C. O.; ANDRADE, B. S.; SOUSA, A. O.; SANTIAGO, A. S.; KOOP, D. M.; GRAMACHO, K. P.; ALVIM, F.C.; MICHELLI, F.; PIROVANI, C. P. TcCYPR04, a Cacao Papain-Like Cysteine-Protease Detected in Senescent and Necrotic Tissues Interacts with a Cystatin TcCYS4. **Plos One**, v. 7, n. 10, p. 1-20, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144440>.

CASTELANI, O, RIBEIRO, L. V., FERNANDES, J. F. Differentiation of *Tripanossoma cruzi* in culture. **The Journal of Protozoology**. v. 14, n. 3, p. 447-451, 1967.

CHAMBERS, J.; CLEVELANDM, W.; KLEINER, B.; TUKEY, P. (1983) **Graphical methods for data analysis**. Wadsworth e Brooks/Cole, Pacific Grove.

CHEN, Y. Y.; CONNER, R. L.; GILLARD, C. L.; BOLAND, G. J.; BABCOCK, C., CHANG, K. F.; HWANG, S. F.; BALASUBRAMANIAN, P. M. A specific and sensitive method for the detection of *Colletotrichum lindemuthianum* in dry bean tissue. **Plant Disease**. v. 91, p. 1271-1276, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-10-1271>.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Nono levantamento, safra 2020/2021, v. 8, n. 3, 2021.

CUNHA, D. S.; VIANA, J. S.; SILVA, W. M.; SILVA, J. M. Soja para consumo humano: breve abordagem. **AGRARIAN ACADEMY**, Centro Científico Conhecer, v. 2, n. 3, p. 101-113, 2015.

DIAS, M. B.; POZZA, E. A.; ABREU, M. S.; MIRANDA, E. O. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de *Coffea arabica* L.. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 3, p. 545-552, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000300006>.

DILLARD, H. R. Effect of temperature, wetness duration, and inoculation density on infection and lesion development of *Colletotrichum coccodes* on tomato fruit. **Phytopathology**, v. 79, n. 10, p. 1063-1066, 1989. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.5.533>

DORRANCE, A. E.; KLEINHENZ, M. D.; McCLURE, S. A.; TUTTLE, N. T. Temperature, moisture, and seed treatment effects on *Rhizoctonia solani* root rot of soybean. **Plant Disease**, v. 87, n. 5, p. 533-538, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1094/pdis.2003.87.5.533>.

EMBRAPA SOJA. **HISTÓRIA DA SOJA**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/portal/soja/cultivos/soja1/história>. Acesso em: 07 jan. 2021.

EMBRAPA. **Plantio da soja na época certa**. Planaltina – DF, 2010. Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/254/> Acesso em: 07 jan. 2021.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p. 1039-1042, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>.

FEITOSA, M. I.; FEICHTENBERGER, M.; KUDAMATSU, M.; ROSSETTI, V.; LEITE, R. Estudos sobre a população de *Colletotrichum* em *Coffea arábica* L, no Estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 44, n. 1/2, p. 33-54, 1977.

FREITAS, M. C. M. A cultura da soja no Brasil: o crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.7, n. 12, p. 1, 2011.

FREITAS, R. E.; SANTOS, G. R. Exportações do complexo soja-milho-aves: concorrentes do brasil e potenciais acordos bilaterais. **Radar**, v. 53, 2017.

GALLI, J. A.; PANIZZI, R. C.; VIEIRA, R. D. I. Resistência de variedades de soja à morte de plântulas causada por *Colletotrichum truncatum*. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 74, n. 2, p. 163-165, 2007.

GODOY, C. et al. Doenças da Soja, In AMORIN, L., et al., (eds.). **Manual de Fitopatologia**. 5. Ed. Ouro Fino-MG: Agronômica Ceres, 2016. p. 657 – 676.

GODOY, C. V.; ULTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C. B.; BORGES, E. P.; ANDRADE JR, C. R.; SIQUERI, F. V.; JULIATTI, F. C.; FEKSA, H. R.; GRIGOLLI, J. F. J.; JUNIOR, J. D.; CARNEIRO, L. C.; SILVA, H. C. P.; SATO, L. N.; CANTERI, M. G. VOLF, M. R. DEBORTOLI, M. P. GOUSSAIN, M.; MARTINS, M.C.; BALARDIN, R. S.; FURLAN, S. H.; MADALOSSO, T.; CARLIN, V. J.; VENANCIO, W. S. Eficiência de fungicidas para o controle de ferrugem-asiática da soja, *Phakospora pachyrhizi*, na safra 2015/2016: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. **Circular Técnica 119, EMBRAPA SOJA**, p. 1-6, 2016.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; LAU, D. Crescimento de isolados de *Cylindrocladium spathulatum* da Erva mate de cinco Regiões do Estado do Paraná. **Boletim de Pesquisa Florestal**, v. 38, p. 67-75, 1999.

JULIATTI, F.C. et al. **Manejo integrado de doenças na cultura da soja**. Uberlândia: EDUFU, 2004. 327p.

KOHLHEPP, G. Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos avançados**. São Paulo, v. 24, n. 68, p. 223-253, 2010.

LEMES, E. M.; GAVASSONI, W. L. Ferrugem Asiática da Soja. In: Ernane Miranda Lemes; Leonardo Humberto Silva e Castro; Rafael Tadeu de Assis. (Org.). **Doenças da Soja - Melhoramento Genético e Técnicas de Manejo**. 1ed.Campinas, SP: Millennium, 2015, v. 1, p. 35-51.

LUCK, J.; SPACKMAN, M.; FREEMAN, A.; TREBICKI, P.; GRIFFITHS, W.; FINLAY, K.; CHAKRABORTY, S. Climate change and diseases of food crops. **Plant Pathology**, v. 60, n. 1, p. 113-121, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02414.x>.

MAIA, F. G. M.; ARMESTO, C.; ZANCAN, W. L. A.; MAIA, J. B.; ABREU, M. S. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de mangueira com sintomas de antracnose. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 2, p. 205-210, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052013000400009>.

MATSUO, É. et al. **Manejo de Doenças**. In: SEDYAMA, T. et al. (Ed.); Soja do plantio à colheita. Viçosa – MG: Ed. UFV, 2015. p. 288-309.

JUHÁSZ, A. C. P.; CIABOTTI, S.; PÁDUA, G. P.; FAVORETO, L.; JESUS, A. M. S.; FRONZA, V. Melhoramento de soja para alimentação humana. **Informes Agropecuários**, v. 35, n. 3, p. 39-45, 2014.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; McMAHON, T. A. Updated world map of the Koppen Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences Discussions Copernicus Publications**, v. 11, n. 5, p. 1633-1644, 2007. DOI: <https://doi.org/10.5194/hess-11-1633-2007>.

PESQUEIRA, A. S.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Fungicide association in the control of anthracnose in the soybean in Mato Grosso do Sul. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 203-212, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160024>.

PIMENTA, A. A. **Caracterização morfológica, patogênica e genética de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em manga (*Mangifera indica* L.)**. 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

PINHEIRO, V. R.; SEIXAS, C. D. S.; GODOY, C. V.; SOARES, R. M.; OLIVEIRA, M. C. N.; ALMEIDA, A. M. R. Development of *Sclerotium rolfsii* sclerotia on soybean, corn, and wheat straw, under different soil temperatures and moisture contents. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 3, p. 332-334, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010000300014>.

POLTRONIERI, T.P.S.; AZEVEDO, L.A.S.; SILVA, D.E.M. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*, isolados de frutos de palmeira juçara (*Euterpe edulis* Mart). **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 4, p. 281-285, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052013000400009>.

RAMOS, A. M.; GALLY, M.; GARCIA, M. C.; LEVIN, L. Pectinolytic enzyme production by *Colletotrichum truncatum*, causal agent of soybean anthracnose. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 27, n. 4, p. 186-190, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.riam.2010.06.002>.

ROTEM, J. Climate and weather influence on epidemics. In: Horsfall, J. G.; DIMOND, A. E. **Plant disease: how disease develops in populations**. New York: Academic, 1978. p. 317-436.

SANGEETHA, C. G.; RAWAL, R. D. Temperature requirement of different isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from mango. **American-urasian Journal of Scientific Research**, v. 4, n. 1, p. 20-25, 2009.

SCHUH, W. & ADAMOWICZ, A. Influence of assessment time and modeling approach of the relationship between temperature-leaf wetness periods and disease parameters of *Septoria glycines* on soybeans. **Phytopathology**, v. 83, n. 9, p. 941-948, 1993. DOI: 10.1094 / Phyto-83-941.

SMITH, B. J.; BLACK, L. L. Morphological, cultural and pathogenic variation among *Colletotrichum* sp. isolated from strawberry. **Plant Disease**. v. 74, p. 69-76. 1990.

SILVA JÚNIOR, M. B. **Fosfíto no manejo da antracnose da soja**. 2017. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.

SINCLAIR, J.B.; HARTMAN, G.L. Soybean diseases. In: HARTMAN, G.L.; SINCLAIR, J.B.; RUPE, J.C. (Eds.) **Compendium of soybean diseases**. 4 ed., Minnesota: APS, p. 3-4, 2008.

SOUZA, V. Q.; BELLÉ, R.; FERRARI, M.; PELEGRIN, A. J.; CARON, B. O.; NARDINO, M.; FOLLMANN, D. N.; CARVALHO, I. R. Componentes de rendimento em combinações de fungicidas e inseticidas e análise de trilha em soja. **Global Science and Technology**, v. 8, n. 1, p. 167-176, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.14688/1984-3801/gst.v8n1p167-176>.

SUTTON, B. C. **The genus *Glomerella* and its Anomorph *Colletotrichum***. In: Bayley, J. A.; Jeger, M. J. (Ed.). *Colletotrichum*, biology, pathology and control. Wallingford: C. A. B. international, 1992. p. 1-26

TANDON, R.N. & CHANDRA, S. The nutrition of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. **Mycopathology et. Mycology Applied**, v.18, p.213-224, 1962. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf02051594>.

TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA – REGIÃO CENTRAL DO BRASIL 2014. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/95489/1/SP-16-online.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2021.

TERAMOTO, A.; PARISI, M. C. M.; CUNHA, M. G. Caracterização fisiológica de isolados de *Corynespora cassiicola*. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 4, p. 313-322, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1982-56762013005000012>.

TOZZE JÚNIOR, H. J.; FIRMINO, A. C.; FISCHER, I. H.; FURTADO, E. L., MASSOLA, N. S. Caracterização de isolados de *Colletotrichum* spp. associados às frutíferas no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathology**, v. 41, n. 4, p. 270-280, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/2021>.

TOZZE JUNIOR, H. J.; MELLO, B. A.; MASSOLA-JUNIOR, N. S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 1, p. 77-79, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052006000100011>

VIDA, J. B.; ZAMBOLIM, L.; TESSMANN, D. J.; BRANDÃO FILHO, J. U. T.; VERZIGNASSI, J. R.; CAIXETA, M. P. Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 355-372, 2004.

ZUNTINI, B.; ALVAREZ, R. C. F.; THEODORO, G. F.; ZUFFO, A. M. Effect of adding fungicide to mixtures of triazoles and strobilurins in the control of downy mildew and Asian soybean rust. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 49, n. 1 p. 1-9, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-40632019v49i53688>.

## CAPÍTULO III

SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Colletotrichum truncatum* AOS FUNGICIDAS EPOXICONAZOL, PROTIOCONAZOL, FLUXAPIROXADE, PIRACLOSTROBINA E TRIFLOXISTROBINA ORIUNDOS DE SOJA

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Colletotrichum truncatum* AOS  
FUNGICIDAS EPOXICONAZOL, PROTIOCONAZOL, FLUXAPIROXADE,  
PIRACLOSTROBINA E TRIFLOXISTROBINA ORIUNDOS DE SOJA**

**RESUMO**

O fungo *Colletotrichum truncatum* causa a antracnose uma doença que danifica a soja, esta doença que afeta a formação das vagens, pode causar morte de plântulas e manchas negras nas nervuras das folhas, hastes e vagens. Sua incidência no cerrado é maior devido precipitação e alta temperatura. A dificuldade de controle da doença pode ser atribuída à pressão de seleção promovida por fungicidas na agricultura que estimula mecanismos de variabilidade dos patógenos a desenvolver populações insensíveis a moléculas químicas. Hoje, misturas de fungicida de contato e sistêmico são recomendadas, uma vez que propiciam uma proteção mais eficaz contra os principais fungos de solo, como é o caso do *Colletotrichum truncatum*. O objetivo do trabalho foi avaliar *in vitro* a sensibilidade de diferentes isolados de *C. truncatum* coletados em diferentes locais, que pertencem à coleção Micológica do Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, os fungicidas de distintos ingredientes ativos, incorporados ao BDA nas concentrações de 0; 0,1; 1,0; 10 e 100 ppm. Foi avaliada a porcentagem do fungo quando submetidos aos fungicidas: piraclostrobina + epoxiconazol + fluxapiroxade, fluxapiroxade + piraclostrobina e protioconazol + trifloxistrobina para estabelecer qual deles apresentou uma maior eficiência de controle. Verificou que o aumento progressivo das doses promove reduções no crescimento micelial. O isolado de Urutaí-GO foi confirmado tanto pela área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial quanto pela taxa de crescimento micelial, como sensível a todos os fungicidas estudados. Pode verificar a grande variabilidade de sensibilidade de isolados *C. truncatum* apresentam perante as diferentes moléculas e a importância de detecção de populações resistentes.

**PALAVRAS-CHAVE:** *C. truncatum*. Populações. *Glycine max*. Fungicidas. Químico. Eficiência de controle.

**SENSITIVITY OF *Colletotrichum truncatum* ISOLATES TO THE FUNGICIDES EPOXICONAZOLE, PROTHIOCONAZOLE, FLUXAPYROXADE, PYRACHLOSTROBIN AND TRIFLOXISTROBINE FROM SOYBEAN**

**ABSTRACT**

The fungus *Colletotrichum truncatum* causes anthracnose a disease that damages soy, this disease that affects the formation of pods, can cause death of seedlings and black spots on the veins of leaves, stems and pods. Its incidence in the cerrado is higher due to precipitation and high temperature. The difficulty in controlling the disease can be attributed to the selection pressure promoted by fungicides in agriculture that stimulates mechanisms of variability of pathogens to develop populations insensitive to chemical molecules. Today, mixtures of contact and systemic fungicide are recommended, since they provide more effective protection against the main soil fungi, as is the case of *Colletotrichum truncatum*. The objective of the work was to evaluate in vitro the sensitivity of different isolates of *C. truncatum* collected in different places, which belong to the Mycological collection of the Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, the fungicides of different active ingredients, incorporated to the BDA in concentrations of 0; 0.1; 1.0; 10 and 100 ppm. The percentage of the fungus was evaluated when subjected to fungicides: pyraclostrobin + epoxiconazole + fluxpyroxade, fluxpyroxade + pyraclostrobin and prothioconazole + trifloxystrobin to establish which one had the highest control efficiency. He found that the progressive increase in doses promotes reductions in mycelial growth. Isolate 15 was confirmed both by the area under the mycelial growth progress curve and by the mycelial growth rate, as being sensitive to all studied fungicides. You can see the great variability of sensitivity of *C. truncatum* isolates in relation to different molecules and the importance of detecting resistant populations.

**KEYWORDS:** *C. truncatum*. Insensitive populations. *Glycine max*. Fungicides, Control efficiency.

## 1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Men.] possui grande importância econômica em todo mundo, sendo considerada umas das principais commodity agrícolas (Rogério et al., 2019). Porém, existem inúmeros fatores que podem afetar o alto rendimento da cultura como clima e solo (Seddiyama et al., 2015; Sivarajan et al., 2018). De acordo com o 2º Levantamento da safra de grãos 2020/21, divulgado pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), o Brasil deverá alcançar a produção de 268,9 milhões de toneladas de alimentos, que representa 11,9 milhões de toneladas ou 4,6 % a mais do que a temporada de 2019/2020 (CONAB, 2021). Os principais fatores fitossanitários da soja sendo doenças, pragas e plantas daninhas (Azevedo et al., 1998). As doenças de incidência e epidemiologias variáveis na soja no sudoeste goiano podem ser sendo elas por antracnose (*Colletotrichum truncatum*), crestamento bacteriano (*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*), cercosporiose (*Cercospora sojina*), fumagina (*Capnodium* sp.), mancha-alvo (*Corynespora cassiicola*), míldio (*Peronospora manshurica*) e oídio (*Erysiphe diffusa*) (Godoy et al., 2016) com porcentagens de progresso de danos variáveis, dando destaque maior a ferrugem asiática, principalmente em períodos úmidos e/ou chuvosos.

A antracnose foi citada pela primeira vez em 1917, na Coreia e, desde então, foi descrita nas regiões temperadas de cultivo de soja e seu germoplasma selecionado (Costa et al., 2009). A doença está agregada, principalmente, à espécie de fungo *Colletotrichum truncatum* (Damm et al., 2009) descrita pela primeira vez por Andrus e Moore (1935) e, em seu estado exato, classificado no gênero *Glomerella* sp. (Amorim, Rezende; Bergamin Filho, 2018; Armstrong-Cho; Banniza, 2006). A antracnose é uma das principais doenças da soja na região do Cerrado brasileiro, pois a cultura é suscetível à infecção em todas as fases de desenvolvimento (Almeida et al., 1997; Henning et al., 2014). A doença caracteriza-se inicialmente por sintomas em plântulas já emergidas apresentando necrose e tombamento, podendo evoluir para sintomas em estádios fenológicos progredidos e apresenta infecção latente (Bailey e Jeger, 1992; Campos et al., 2006) com necrose em hastes, folhas e vagens, incluindo abertura imatura e torção de vagens e germinação antecipada de grãos (Backman et al., 1982; Galli et al., 2005; Reis et al., 2012), sendo que as sementes infectadas e os restos culturais são fontes primárias do inóculo da doença (Manandhar e Hartman, 1999; Goulart, 2018).

Ainda que não exista cultivares de soja comerciais com resistência que evite agravos econômicos da antracnose, algumas fontes resistentes foram identificadas (Costa et al., 2009). Contudo, o controle químico é uma importante opção utilizada para o controle da doença. A utilização de fungicidas (triazóis, estrobilurinas, carboxamidas e protetores multissítios) na parte aérea pode precaver a infecção do hospedeiro ou estacionar a colonização estabelecida (Reis et al., 2012). Os fungicidas podem ser rotulados pelos diferentes mecanismos de ação (Zanatto et al., 2018). Cada grupo químico possui um mecanismo de ação distinto, que é a forma pela qual um fungicida interfere numa função metabólica normal dos fungos, causando sua morte (FRAC, 2017). Fungicidas pertencentes ao grupo químico estrobilurina, especialmente azoxistrobina, picoxistrobina, piraclostrobina e trifloxistroina são recomendados para aplicação em uma extensa gama de culturas para precaver o desenvolvimento de doenças (Oliveira et al., 2015) incluindo a antracnose, *Colletotrichum* spp. tem sido citado que o emprego de difeconazol, trifloxistrobina, azoxistrobina + difeconazol e piraclostrobina pode proceder em controle de até 93% da doença. Essa informação é confirmada em estudos realizados no Brasil, utilizando azoxistrobina e piraclostrobina que apontam para a redução na incidência da antracnose em soja (Pesqueira et al., 2016).

Entretanto, um dos fatores limitantes no controle químico de doenças é o desenvolvimento da resistência de fungos aos fungicidas. Resistência consiste em uma alteração herdável e estável quando aplicado um produto, provocando redução da sensibilidade (Zuntini et al., 2019). Para espécies de *Colletotrichum*, a resistência já foi relatada à benzimidazol, estrobilurina e triazol causando repetidamente a redução da eficácia desses fungicidas (Pesqueira et al., 2016). Verificações sobre a diminuição da sensibilidade de isolados de *Colletotrichum* spp. a fungicidas mostra diferenças, um exemplo foi em isolados expostos que sofreram redução na sensibilidade ao benomil e com taxas mais lentas de crescimento entre isolados, mesmo comportamento ressaltado para captana, triadimenol, tiabendazol, carbendazim e azoxistrobina (Tozze junior et al., 2006; Ferreira et al., 2009). Com todas essas informações divergentes, deve ser feito o monitoramento da sensibilidade do fungo, determinado através da concentração da substância que inibe 50% o crescimento micelial ou a germinação de esporos viáveis (Reis; Casa; Reis, 2012). Diante da importância da antracnose na cultura da soja, é necessário determinar a sensibilidade de isolados do fungo a diferentes mecanismos de ação dos fungicidas Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade de

isolados de *C. truncatum*, provenientes de diferentes regiões aos fungicidas (trifloxistrobina + proclorazolo, (piraclostrobina + fluxapiróxade) e (piraclostrobina + fluxapiróxade + epoxiconazol), com distintos mecanismos de ação, isolados ou em misturas, além da determinação do EC 50.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia do Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, em 2019. Os 23 isolados do fungo foram obtidos de folhas, hastes e vagens de soja com sintoma de antracnose, provenientes de diferentes regiões. Cada isolado foi identificado com um número para manutenção e armazenamento. Para tal isolamento, a partir do tecido doente foi feita uma desinfestação superficial com solução de hipoclorito de sódio (3%). As porções infetadas da planta foram mantidas em câmara úmida sob uma folha de papel germiteste saturadas com água destilada e mantidas em câmara de crescimento por dois dias para o processo de esporulação. Com o auxílio de uma agulha flambada foram transferidos acérvulos para a placa de Petri que possuía meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), após, foram mantidos em câmara de crescimento a temperatura de 28°C por sete dias. Foram utilizados 3 fungicidas (Tabela 1), aos quais foram diluídos em concentrações referentes as doses de 0,1; 1; 10; 100 ppm, além da testemunha, determinados de acordo com a concentração de ingrediente ativo de cada produto. Cada dose do fungicida foi depositada em Erlenmeyers de 250 mL com o auxílio de ponteiras e pipetas devidamente esterilizadas e autoclavadas, que após a deposição foram preenchidos com água estéril autoclavada.

Foram realizadas 3 repetições de cada dose, considerando os 23 isolados (Tabela 2) e as 5 doses, totalizaram 3.105 placas por fungicida, contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA). Todo o experimento foi realizado em câmara de fluxo. No dia seguinte da preparação do meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), foi depositado 3 ml de cada concentração do fungicida no meio BDA (500 mL) e em seguida vertidos nas placas, que receberam um disco de 9mm das matrizes que continham os isolados. As placas foram devidamente vedadas em papel filme PVC, identificadas e incubadas em câmara de crescimento a condição de 27°C. As avaliações foram realizadas com régua, medindo o diâmetro das colônias com intervalo de período de 24 em 24 horas, durante sete dias. A partir de sete medidas temporais do diâmetro da colônia obtido em mm, realizados

entre, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dias após a inoculação (DAI) em meios de cultivos onde se difundiu as concentrações de fungicidas.

**Tabela 1:** Misturas de fungicidas, nome comercial, concentração e mecanismo de ação.

<b>Ingrediente Ativo</b>	<b>Nome comercial</b>	<b>Concentração</b>	<b>Mecanismo de Ação</b>	<b>Grupo</b>
trifloxistrobina + protioconazol	Fox®	150+175	IQe + IDM	Estrobilurina Triazois
piraclostrobina + fluxapirroxade	Orkestra®	333+167	IQe + ISDH	Estrobilurina Carboximida
piraclostrobina + fluxapirroxade + epoxiconazol	Ativum®	50+81+50	IQe + IDM + ISDH	Estrobilurina Carboxamida Triazois

\*IQe (estrobilurina) respiração, ISDH (Carboxamida) respiração, IDM (Triazol)-ergosterol. piraclostrobina e trifloxistrobina - grupo das estrobilurinas - inibidores de respiração no complexo 3, citocromo bc1 (fungicidas QoI). epoxiconazol e protioconazol –triazóis, - são inibidores da síntese de ergosterol (fungicidas DMI).

fluxapirroxade - grupo carboxamidas - inibidores de respiração no complexo 2, dehydrogenase succinato (fungicidas SDHI).

A partir dessa integralização onde X foram os DAI e Y o diâmetro da colônia (subtraído do disco de micélio calculou-se área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM), integralizando a curva de progresso para cada dosagem e/ou isolado (diâmetro da colônia x DAI) por meio da fórmula:

$$AACPCM = \sum_i^{n-1} \frac{(X_i + X_{i+1})(t_{i+1} - t_i)}{2}$$

Onde, n é o número de avaliações do diâmetro da colônia, Xi é a diâmetro da colônia (mm) e (ti+1-ti) é o número em dias entre as avaliações consecutivas (Shanner e Finlay, 1978). O valor da AACPF sintetiza todas as avaliações de severidade em um único valor.

A taxa de crescimento micelial (TCM) foi calculada através da regressão linear sendo os dias de incubação (valor de X) e Y os valores de diâmetro de colônia, respectivamente, sendo o parâmetro de coeficiente angular obtido no Excel®,

(procedimento = inclinação y;x) correspondente a taxa de crescimento dada em % de crescimento micelial (mm) dia<sup>-1</sup>. Os isolados foram considerados sensíveis quando apresentaram DL 50 entre 0-100 ppm, 100-800 classificados como intermediários, acima de 800 insensíveis a molécula testada.

**Tabela 2.** Isolados de *Colletotrichum truncatum* e origem de coleta.

<b>Número do isolado</b>	<b>Origem</b>
1	Passo Fundo – RS
2	Passo Fundo – RS
3	Passo Fundo – RS
4	Passo Fundo – RS
5	Brasília – DF
6	Brasília – DF
7	Brasília – DF
8	Brasília – DF
9	Urutaí – GO
10	Urutaí – GO
11	Urutaí – GO
12	Urutaí – GO
13	Urutaí – GO
14	Urutaí – GO
15	Urutaí – GO
16	Uberlândia-MG
17	Urutaí – GO
18	Edeia-GO
19	Uberlândia-MG
20	Uberlândia-MG
21	Uberlândia-MG
22	Uberlândia-MG
23	Uberlândia-MG

A dosagem letal capaz de inibir o crescimento micelial a 50 % (DL50) foi calculada a partir da regressão linear do logaritmo das dosagens da mistura do fungicida com as porcentagens de inibição, permitindo a obtenção da equação do modelo

representada por  $y = a + bx$ , obtendo-se assim a e b. Para cada repetição calculou-se a DL substituindo o valor de y por 50 chegando a um valor de dosagem por isolado apresentado na forma de  $\text{mg L}^{-1}$ .

A AACPCM e TCM dos isolados e das diferentes dosagens, a % de inibição do crescimento micelial aos 0,1, 1, 10, 100 ppm foram submetidos ao teste de comparação de médias Skott-Knott, e teste não paramétrico seguido de teste de comparação de médias Tukey, ambos a  $P \sim 0,05$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Sensibilidade de isolados de *C. truncatum* oriundos de soja a piraclostrobina + fluxapiraxade + epoxiconazol

A área a baixo da curva de progresso do crescimento micelial indicou estatisticamente maiores e menores índices nos isolados de Passo Fundo, Brasília-DF, Edeia-GO e Uberlândia-MG. Os que apresentaram maior e menor taxa de crescimento micelial diário foram os isolados de Passo Fundo, Brasília-DF, Edeia-GO e Uberlândia-MG (Tabela 3).

Houve grande variação entre os isolados quanto à área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e do crescimento micelial diário. Que pode ser atribuído as condições encontradas em cada região onde foi coletado o isolado. Resultado semelhante foi encontrado por Hamada et al. (2009) onde comparou isolados de regiões que tiveram contato com benomyl e isolado que nunca entraram em contato com o fungicida de forma que foi observada diferentes níveis de sensibilidade ao fungicida.

**Tabela 3.** Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapiroxade + epoxiconazol) em relação aos isolados.

Isolados	AACPCM	TCM (% dia <sup>-1</sup> )
Passo Fundo - RS	131,3 d	5,6 c
Passo Fundo - RS	157,1 a	7,4 a
Passo Fundo - RS	132,7 d	6,0 b
Passo Fundo - RS	165,8 a	7,6 a
Brasília - DF	139,7 c	6,8 b
Brasília - DF	147,0 b	7,1 a
Brasília - DF	151,3 b	6,6 b
Brasília - DF	159,9 a	7,7 a
Urutaí - GO	144,4 b	6,6 b
Urutaí - GO	143,4 b	6,6 b
Urutaí - GO	154,6 a	7,3 a
Urutaí - GO	120,5 e	5,2 c
Urutaí - GO	148,4 d	7,1 a
Urutaí - GO	149,8 d	6,5 b
Urutaí - GO	78,1 d	3,6 d
Uberlândia-MG	93,4 d	4,1 d
Urutaí - GO	141,8 c	6,4 b
Edeia-GO	82,8 g	3,6 d
Uberlândia-MG	144,4 b	6,6 b
Uberlândia-MG	143,4 b	6,6 b
Uberlândia-MG	154,6 a	7,3 a
Uberlândia-MG	120,5 e	5,2 c
Uberlândia-MG	148,4 b	7,1 a
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,8203 <sup>ns</sup>	0,90483 <sup>ns</sup>
Bartlett (Homogeneidade)	6,3888**	8,7986 <sup>ns</sup>
Valor F <sub>16,32</sub>	75,5509**	1,453e-13 ***
Coeficiente de Variação (%)	49,35	48,55
Valor de Friedman	43,7908**	2,8300 <sup>ns</sup>

\*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si ao teste Tukey a P~0,05; coeficientes marcados em negritos representam os testes que os testes de médias foram implementados.

Quando se analisa as doses em relação à área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial notasse que a dose que apresentou maior crescimento micelial foi a dose 0ppm e menor a dose 100ppm. A dose 0 ppm e 1 ppm apresentaram as maiores taxas de crescimento micelial diário com um crescimento de 8% e 7,9% por dia, já a dose 100 ppm apresentou a menor taxa com um crescimento de 1,3% por dia (Tabela 4). Progressão esperada devido ao aumento da concentração dos fungicidas, resultados semelhantes foram obtidos por Ferreira et al. (2009) apontaram que onde observou-se

que o aumento da dose dos fungicidas diminuiu o crescimento micelial e germinação dos esporos.

**Tabela 4.** Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapiróxade + epoxiconazol) em relação a concentração utilizada.

Doses	AACPCM	TCM (% dia <sup>-1</sup> )
0	184,1 a	8,0 a
0,1	167,0 b	7,2 b
1	168,0 b	7,9 a
10	138,7 c	6,5 c
100	18,2 d	1,3 d
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,9165 <sup>ns</sup>	0,9527 <sup>ns</sup>
Bartlett (Homogeneidade)	43,294 <sup>ns</sup>	27,362 <sup>ns</sup>
Valor F <sub>4,8</sub>	396,7957**	0,0001**
Coeficiente de Variação (%)	25,45	32,05
Valor de Friedman	11,4667**	11,4667**

\*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si ao teste Tukey a P~0,05; coeficientes marcados em negritos representam os testes que os testes de médias foram implementados.

A utilização de produtos com mistura tripla de ingredientes ativos é uma boa maneira de obter um controle eficiente, todavia representa um risco ao possibilitar a obtenção de microrganismos com resistência cruzada demandando assim um acompanhamento metódico da área com o intuito não gerar resistência (GUINI & KIMATI, 2000).

Com base nas médias de DL50 os isolados com maiores taxas de DL50 foram os isolados de Passo Fundo-RS e Urutaí-GO e menores foram os isolados de Passo Fundo, Brasília-DF, Edeia-GO e Uberlândia-MG. Ao realizar a análise de DL50 dos isolados observou-se que os isolados apresentaram sensibilidade (Tabela 5).

Na mistura Piraclostrobina + Fluxapiróxade + Epoxiconazol, os isolados que apresentaram respectivamente maior e menor crescimento micelial foram isolados de Passo Fundo, Brasília-DF e Edeia-GO, os menores foram os isolados Passo Fundo-RS, Urutaí e Brasília-DF (0,1 ppm), Urutaí-GO e Brasília-DF, os menores foram os isolados de Passo Fundo, Brasília-DF e Urutaí-GO (1 ppm), os isolados de Brasília-DF, Edeia-GO e Uberlândia-MG e os menores foram os isolados de Passo Fundo, Brasília-DF, Urutaí-GO (10 ppm) e Urutaí-GO, Uberlândia-GO, Edeia-GO e Passo Fundo-RS e os menores foram os isolados de Passo Fundo e Brasília-DF. (100 ppm) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Porcentagem de inibição em diferentes concentrações da mistura de fungicidas (Piraclostrobina + Fluxapirroxade + Epoxiconazol), dosagem letal capaz de inibir o crescimento micelial em 50 % e grupos de reação da sensibilidade.

Isolados	0,1 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm	DL50 (mg L <sup>-1</sup> )	Sensibilidade
Passo Fundo - RS	10,74 c	28,19 a	24,13 d	98,94 d	40,85 a	Sensível
Passo Fundo - RS	4,43 c	2,25 c	1,27 f	63,95 f	73,61 a	Sensível
Passo Fundo - RS	11,03 c	36,92 a	25,83 d	59,81 d	57,69 a	Sensível
Passo Fundo - RS	0,82 d	1,39 c	29,91 b	76,93 c	53,65 a	Sensível
Brasília - DF	48,21 a	44,26 a	9,30 f	83,63 b	35,70 a	Sensível
Brasília - DF	4,52 d	6,56 f	12,77 d	88,77 b	50,77 a	Sensível
Brasília - DF	18,89 c	33,27 a	21,38 d	86,42 b	46,81 a	Sensível
Brasília - DF	8,71 d	1,33 e	25,14 c	70,54 c	55,20 a	Sensível
Urutaí - GO	19,20 b	21,77 b	24,36 d	80,59 b	56,58 a	Sensível
Urutaí - GO	19,18 b	21,75 b	24,34 d	80,57 b	56,57 a	Sensível
Urutaí - GO	1,69 d	0,56 e	7,34 e	80,79 b	50,14 a	Sensível
Urutaí - GO	29,05 a	36,73 a	24,01 d	88,27 b	58,14 a	Sensível
Urutaí - GO	16,71 b	3,37 f	17,03 f	87,79 b	65,19 a	Sensível
Urutaí - GO	34,53 a	10,68 b	19,03 d	92,06 b	47,91 a	Sensível
Urutaí - GO	13,46 c	9,18 c	77,13 a	100,00 a	45,57 a	Sensível
Uberlândia-MG	27,21 b	20,41 b	48,30 a	100,00 a	50,30 a	Sensível
Urutaí - GO	4,78 d	53,77 a	18,91 f	85,76 b	54,05 a	Sensível
Edeia-GO	39,42 b	17,59 b	25,75 c	100,00 a	46,58 a	Sensível
Uberlândia-MG	34,53 a	10,72 b	19,07 d	92,10 b	47,91 a	Sensível
Uberlândia-MG	13,49 c	9,21 c	77,15 a	100,00 a	45,57 a	Sensível
Uberlândia-MG	27,23 b	20,45 a	48,32 b	100,00 a	50,30 a	Sensível
Uberlândia-MG	4,81 d	53,80 a	18,94 f	85,78 b	54,05 a	Sensível
Uberlândia-MG	39,45 b	17,61 b	25,78 c	100,00 a	46,58 a	Sensível
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,96761	0,98196	0,96735	0,91756	0,9766	
Bartlett (Homogeneidade)	34,61	24,408	20,091	39,494	15,73	
Valor F <sub>4,8</sub>	0,1165**	6,5860**	0,0003**	0,0007**	0,9649	
Coefficiente de Variação (%)	356,294	4019,262	87,904	9,969	45,254	
Valor de Friedman	21,494	36,933	31,470	31,470	7,607	

\*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si ao teste Tukey a P~0,05.

### 3.2 Sensibilidade de isolados de *C. truncatum* oriundos de soja a trifloxistrobina + protioconazol

Ambas as variáveis área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial não apresentaram homogeneidade e distribuição normal sendo analisadas via teste não paramétrico e teste de comparação de médias consequentemente (Tabela 6).

A área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM) em todas as dosagens da mistura de fungicidas indicaram estatisticamente que as maiores

médias foram observadas nos isolados de Urutaí-GOe, diferindo estatisticamente dos demais, podendo ser representados por isolados menos sensíveis a mistura trifloxistrobina+protioconazol (Tabela 6). A AACPCM em todas as dosagens da mistura de fungicidas indicaram estatisticamente que as menores médias observadas foram para os isolados de Edeia-GO, Uberlândia-MG, Urutaí-GO e Passo Fundo-RS podendo ser considerados os isolados avaliados os isolados mais sensíveis a mistura trifloxistrobina+protioconazol no grupo de isolados avaliados (Tabela 6).

**Tabela 6** - Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (trifloxistrobina + protioconazol) em relação aos isolados\*.

Isolados	AACPCM	TCM (% dia <sup>-1</sup> )
Passo Fundo - RS	94,65 f	3,69 f
Passo Fundo - RS	99,82 d	3,94 d
Passo Fundo - RS	100,67 e	3,72 f
Passo Fundo - RS	80,75 i	3,22 h
Brasília - DF	95,00 h	3,61 g
Brasília - DF	104,38 d	3,91 d
Brasília - DF	100,97 d	3,91 d
Brasília - DF	100,95 d	4,22 a
Urutaí - GO	107,87 a	4,11 b
Urutaí - GO	96,32 g	3,65 f
Urutaí - GO	100,67 e	3,92 e
Urutaí - GO	106,30 b	4,16 b
Urutaí - GO	107,16 a	4,09 b
Urutaí - GO	96,90 g	3,72 f
Urutaí - GO	64,07 i	2,96 h
Uberlândia-MG	69,22 i	2,65 i
Urutaí - GO	114,33 a	4,54 a
Edeia-GO	56,20 j	2,52 i
Uberlândia-MG	94,30 f	3,59 f
Uberlândia-MG	80,90 i	3,25 h
Uberlândia-MG	100,62 e	3,95 e
Uberlândia-MG	94,80 h	3,72 f
Uberlândia-MG	95,40 h	3,65 g
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,97577 <sup>ns</sup>	0,9851 <sup>ns</sup>
Bartlett (Homogeneidade)	47,773 <sup>**</sup>	63,2014 <sup>ns</sup>
Valor F <sub>16,32</sub>	5,236 <sup>**</sup>	3,9 <sup>**</sup>
Coefficiente de Variação (%)	30,98	36,97
Valor de Friedman	40,5752 <sup>**</sup>	39,6863 <sup>ns</sup>

\*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si ao teste Tukey a P~0,05; coeficientes marcados em negritos representam os testes que os testes de médias foram implementados.

Os isolados considerados menos sensíveis cresceram 1,76 vezes mais que os isolados sensíveis em meios de culturas contendo dosagens crescentes da mistura de fungicidas (Tabela 6).

Sugere Yokosawa et al. (2017) que a frequência do desenvolvimento de resistência a fungicidas é específica da espécie de *Colletotrichum*. Geralmente, o risco de desenvolvimento de resistência a fungicidas aumenta quando a recombinação sexual é obrigatória em seu ciclo de vida.

A taxa de crescimento micelial (TCM) que indica nas diferentes concentrações da mistura trifloxistrobina+protioconazol a porcentagem diária de crescimento dos isolados e/ou o progresso temporal. Essa demonstrou que os isolados Urutaí-GO e Brasília-DF, apresentaram as maiores médias, diferindo estatisticamente dos demais isolados (Tabela 6). Já os isolados Edeia-GO, Uberlândia-MG e Urutaí-GO, apresentaram as menores médias de TCM, diferindo estatisticamente dos demais isolados. O primeiro grupo de isolados apresentou médias de TCM 1,8 vezes maior que o segundo grupo considerado sensível a molécula (Tabela 7). Este comportamento pode ter ocorrido devido a uma menor pressão de seleção sobre estes isolados a campo antes da coleta.

Lopes et al. (2015) em suas comparações entre médias da porcentagem de inibição do crescimento micelial nos diferentes isolados de *Colletotrichum* sp., os isolados de caqui, iuca e antúrio foram mais sensíveis aos fungicidas aplicados da que a soja, este comportamento fenotípico mais sensível deve-se a menor pressão de seleção de populações dos isolados de *Colletotrichum* sp. resistentes aos grupos químicos aplicados, dado a menor quantidade de moléculas registradas e de uso para controle seu controle.

Quando se analisa as doses em relação à área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial nota - se que a dose que apresentou maior crescimento micelial foi a dose 0 ppm e menores as doses 1 ppm e 100 ppm. A dose 0 ppm apresentou a maior taxa de crescimento micelial diário com um crescimento de 5,34% por dia, já a dose 1 ppm e 100 ppm apresentaram as menores taxas com um crescimento de 2,83% e 2,87% por dia (Tabela 7).

Esse comportamento é esperado devido ao aumento da dose utilizada, onde na dose 0 ocorreu o maior crescimento micelial e conforme a dose foi aumentando menor foi o crescimento micelial devido ao melhor controle, resultado semelhante ao de Oliveira et al. (2015) onde o aumento da dose de fungicida promoveu melhorias nos níveis de controle.

**Tabela 7.** Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (trifloxistrobina + protioconazol) em relação à concentração utilizada.

Doses	AACPCM	TCM (% dia <sup>-1</sup> )
0	130,09 a	5,34 a
0,1	104,03 b	4,21 b
1	78,02 d	2,83 d
10	83,76 c	3,23 c
100	76,02 d	2,87 d
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,9681**	0,9463**
Bartlett (Homogeneidade)	28,4270**	58,1830**
Valor F <sub>4,8</sub>	5,1171**	1,8310**
Coeficiente de Variação (%)	27,11	28,72
Valor de Friedman	11,4667**	11,4667**

\*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si ao teste Tukey a  $P \sim 0,05$ ; coeficientes marcados em negritos representam os testes que os testes de médias foram implementados.

Na mistura trifloxistrobina+protioconazol, os que apresentaram maior crescimento micelial foram os isolados de Passo Fundo, Brasília-DF e Uberlândia-MG (0,1ppm), a 1 ppm foram os isolados de Passo Fundo, Edeia-GO e Urutaí-GO, a 10 ppm foram os isolados Brasília-DF, Urutaí-GO, Uberlândia-MG e Edeia-GO, e a 100 ppm foram os isolados de Passo Fundo, Brasília-DF, Urutaí-GO (Tabela 8).

É possível observar que os isolados de Passo Fundo, Brasília-DF, Edeia-GO e Uberlândia-MG destacaram-se com altos índices de crescimento em ao menos três dosagens inclusive na maior dose representada por 100 ppm, enquanto os isolados Brasília-DF e Urutaí-GO, apresentaram menores índices de crescimentos em ao menos 3 dosagens com destaque para os isolados de Urutaí-GO, que se mantiveram entre os isolados de menor crescimento em todas as dosagens utilizadas (Tabela 8).

Diferenças na sensibilidade de isolados em relação a um mesmo ingrediente ativo pode demonstrar o risco de desenvolvimento de resistência ao ingrediente ativo utilizado, resistência essa adquirida em grande parte devido a não utilização de estratégias anti resistência (Wong e Midland, 2007). Zhang et al. (2017) verificou a falta de sensibilidade a tebuconazol de 112 isolados de *C. truncatum* em 13 regiões da China o que demonstra a importância de utilizar diferentes ingredientes ativos e mecanismos de ação de forma a evitar a seleção de indivíduos resistentes.

Com base nas médias de DL50 os isolados insensíveis foram os isolados Passo Fundo-RS e Urutaí-GO e sensíveis foram os isolados 4 de Passo Fundo, Brasília-DF, Edeia-GO e Uberlândia-MG. Ao realizar a análise de DL50 dos isolados observou-se que os isolados que apresentaram menores e maiores índices de sensibilidade foram respectivamente os isolados de Passo Fundo-RS (Sensível), Edeia-GO (Sensível) e Urutaí-GO (Sensível) e Urutaí-GO (Intermediário), Passo Fundp-DF (Insensível) e Urutaí-GO (Insensível) (Tabela 8).

A diferenciação da sensibilidade de isolados de diferentes regiões evidencia a diferença entre o controle químico utilizado em cada região, onde devido ao manejo utilizado em cada uma gera diferenças de sensibilidade entre os isolados (Silva, 2018).

**Tabela 8.** Porcentagem de inibição em diferentes concentrações da mistura de fungicidas (trifloxistrobina + procloraz-azoxolol), dosagem letal capaz de inibir o crescimento micelial em 50 % e grupos de reação da sensibilidade I – intermediário, S- sensível e INS - insensível

Isolados	0,1 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm	DL50 (mg L <sup>-1</sup> )	Sensibilidade
Passo Fundo - RS	4,55 a	4,6 f	4,70 c	66,84 a	120,31 c	Intermediária
Passo Fundo - RS	3,49 e	4,84 f	4,55 d	33,97 e	219,19 b	Intermediária
Passo Fundo - RS	3,26 e	5,22 f	4,88 d	44,19 d	809,07 a	Insensível
Passo Fundo - RS	4,88 a	8 a	4,76 c	55,13 b	34,72 d	Sensível
Brasília - DF	4,03 b	4,17 g	5,71 b	30,70 f	75,75 d	Sensível
Brasília - DF	3,47 c	4,87 f	4,49 d	44,31 d	235,86 b	Intermediária
Brasília - DF	3,45 c	5,56 c	3,88 d	44,08 d	69,07 d	Sensível
Brasília - DF	2,98 e	5,04 e	3,61 e	33,97 e	65,18 d	Sensível
Urutaí - GO	3,16 e	4,63 f	3,97 e	33,73 f	70,75 d	Sensível
Urutaí - GO	3,47 c	5,57 c	3,89 d	44,10 e	69,09 d	Sensível
Urutaí - GO	4,19 b	4,51 f	3,37 e	44,26 d	264,80 b	Intermediária
Urutaí - GO	3,20 e	5,46 d	3,07 f	44,01 e	54,79 d	Sensível
Urutaí - GO	3,30 e	4,66 f	3,65 e	33,99 e	142,96 b	Intermediária
Urutaí - GO	3,35 d	4,43 f	3,51 e	44,44 c	78,38 d	Sensível
Urutaí - GO	3,38 c	7,6 a	16,15 a	98,18 a	88,71 d	Sensível
Uberlândia-MG	5,68 b	6,01 d	15,76 a	33,33 a	68,57 d	Sensível
Urutaí - GO	2,72 f	4,21 f	3,01 e	44,48 d	850,25 a	Insensível
Edeia-GO	4,25 b	6,14 b	16,67 a	100,00 a	34,72 d	Sensível
Uberlândia-MG	3,19 e	4,65 f	3,98 e	32,78 f	70,78 d	Sensível
Uberlândia-MG	3,27 c	5,37 c	3,69 d	30,80 e	68,99 d	Sensível
Uberlândia-MG	4,22 b	4,53 f	3,40 e	44,28 d	264,82 b	Intermediária
Uberlândia-MG	3,25 e	5,48 d	3,09 f	42,03 e	54,81 d	Sensível
Uberlândia-MG	3,33 e	4,69 f	3,68 e	42,02 e	142,99 b	Intermediária
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,8628 <sup>ns</sup>	0,8963 <sup>ns</sup>	0,8148 <sup>**</sup>	0,5476 <sup>ns</sup>	0,7890 <sup>**</sup>	
Bartlett (Homogeneidade)	54,5600 <sup>ns</sup>	46,7250 <sup>ns</sup>	49,0960 <sup>**</sup>	67,0570 <sup>ns</sup>	67,2510 <sup>**</sup>	
Valor F <sub>4,8</sub>	0,0033 <sup>**</sup>	0,0005 <sup>**</sup>	8,4330 <sup>**</sup>	692,0756 <sup>**</sup>	0,1748 <sup>ns</sup>	
Coefficiente de Variação (%)	20,35	18,38	54,54	21,14	1374,90	
Valor de Friedman	34,9102 <sup>**</sup>	27,9786 <sup>**</sup>	35,3167 <sup>**</sup>	37,8236 <sup>**</sup>	7,6078 <sup>ns</sup>	

\*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si ao teste Tukey a P~0,05; coeficientes marcados em negritos representam os testes que os testes de médias foram implementados.

### 3.3 Sensibilidade de isolados de *C. truncatum* oriundos de soja a piraclostrobina + fluxapiroxade

A área a baixo da curva de progresso do crescimento micelial indicou estatisticamente maiores índices nos isolados Urutaí-GO, Brasília-DF e Passo Fundo-RS. Já os isolados que apresentaram maiores taxa de crescimento micelial diário foram os isolados de Urutaí-GO, Brasília-DF e Passo Fundo-RS (Tabela 9).

**Tabela 9.** Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapiroxade) em relação aos isolados\*.

Isolados	AACPCM	TCM (% dia <sup>-1</sup> )
Passo Fundo - RS	113,67 d	4,32 a
Passo Fundo - RS	112,22 e	3,87 e
Passo Fundo - RS	101,48 h	3,88 e
Passo Fundo - RS	118,08 a	4,21 a
Brasília - DF	117,72 b	4,10 c
Brasília - DF	111,32 e	3,89 e
Brasília - DF	107,63 f	3,63 f
Brasília - DF	104,23 g	3,91 d
Urutaí - GO	115,78 c	4,06 b
Urutaí - GO	113,64 d	4,30 a
Urutaí - GO	114,43 d	3,91 d
Urutaí - GO	111,92 d	3,78 e
Urutaí - GO	98,26 h	3,39 g
Urutaí - GO	99,53 h	3,28 h
Urutaí - GO	51,25 j	1,59 i
Uberlândia-MG	59,95 j	1,20 h
Urutaí - GO	128,72 a	4,50 a
Edeia-GO	75,73 i	2,48 h
Uberlândia-MG	98,22 h	3,35 g
Uberlândia-MG	99,51 h	3,27 h
Uberlândia-MG	98,36 h	3,39 g
Uberlândia-MG	98,16 h	3,39 g
Uberlândia-MG	99,53 h	3,28 h
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,96226 <sup>ns</sup>	0,96985 <sup>ns</sup>
Bartlett (Homogeneidade)	74,1**	81,79 <sup>ns</sup>
Valor F <sub>16,32</sub>	86,9710**	65,579**
Coefficiente de Variação (%)	26,01181	33,94579
Valor de Friedman	43,9739**	42,8214 <sup>ns</sup>

\*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si ao teste Tukey a 5% de probabilidade; coeficientes marcados em negritos representam os testes que os testes de médias foram implementados.

Observar-se variação significativa quanto ao crescimento micelial dos isolados o que pode ser fruto da exposição de alguns isolados ao fungicida anteriormente devido ao manejo cultural utilizado ainda em campo, fato semelhante foi observado por Fernandes et al. (2001) utilizando isolados de *C. gloesporioides* onde demonstraram maior ou menor sensibilidade em função da exposição ao manejo utilizado em cada região.

Quando se analisa as doses em relação à área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial notasse que a dose que apresentou maior crescimento micelial foi a dose 0ppm e menor a dose 100 ppm. A dose 0 ppm apresentou a maior taxa de crescimento micelial diário com um crescimento de 4,86% por dia, já a dose 100 ppm apresentou a menor taxa com um crescimento de 2,78% por dia (Tabela 10).

**Tabela 10.** Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapiroxade) em relação à concentração utilizada.

Doses	AACPCM	TCM (% dia <sup>-1</sup> )
0	133,64 a	4,86 a
0,1	103,86 b	3,46 c
1	104,46 b	3,66 b
10	90,70 c	3,12 d
100	79,67 d	2,78 e
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,8594 <sup>ns</sup>	0,8775 <sup>ns</sup>
Bartlett (Homogeneidade)	19,103 <sup>ns</sup>	27,362 <sup>ns</sup>
Valor F <sub>4,8</sub>	1,6410**	1,597e-07**
Coefficiente de Variação (%)	34,53	32,05
Valor de Friedman	11,4667**	12,0000 <sup>ns</sup>

\*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si ao teste Tukey a 5%; coeficientes marcados em negritos representam os testes que os testes de médias foram implementados.

O aumento progressivo da dose promoveu reduções no crescimento micelial o que demonstra a eficiência do fungicida no controle dos isolados, Silva (2017) relatou resultados semelhantes na inibição de *C. gloesporioides* onde ao realizar o aumento da dose de fungicida ocorreu um aumento na inibição do crescimento micelial dos isolados.

Na mistura piraclostrobina + fluxapiroxade os isolados que apresentaram respectivamente, maior crescimento micelial foram os isolados Urutaí-GO, Brasília-DF e Passo Fundo-RS (0,1 ppm), Uberlândia-MG, Urutaí-GO e Edeia-GO (1 ppm),

isolados de Uberlândia-MG e Edeia-GO (10 ppm) e Uberlândia-MG, Urutaí-GO e Edeia-GO (100 ppm) (Tabela 11).

**Tabela 11.** Porcentagem de inibição em diferentes concentrações da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapirroxade), dosagem letal capaz de inibir o crescimento micelial em 50 % e grupos de reação da sensibilidade.

Isolados	0,1 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm	DL50 (mg L <sup>-1</sup> )	Sensibilidade
Passo Fundo - RS	3,69 e	3,08 g	3,70 f	44,29 c	475,26 a	Intermediária
Passo Fundo - RS	3,96 d	3,37 f	4,15 e	42,75 c	1580,49 c	Intermediária
Passo Fundo - RS	3,43 e	4,29 b	4,37 d	48,62 c	972,03 a	Insensível
Passo Fundo - RS	3,37 e	3,41 e	3,71 e	45,35 c	78,42 b	Sensível
Brasília - DF	4,56 c	2,87 g	3,83 e	35,53 c	50,30 b	Sensível
Brasília - DF	4,23 c	3,57 c	4,01 e	45,28 c	349,73 a	Intermediária
Brasília - DF	3,62 e	3,04 g	3,80 e	45,60 c	41,55 b	Sensível
Brasília - DF	4,92 a	3,30 f	3,72 e	45,20 c	13,09 b	Sensível
Urutaí - GO	3,73 d	3,28 f	4,29 c	44,61 c	269,40 a	Sensível
Urutaí - GO	3,74 d	3,29 f	4,30 c	44,62 c	269,41 a	Sensível
Urutaí - GO	4,45 c	3,81 d	3,61 f	64,36 b	2046,36 b	Intermediária
Urutaí - GO	3,93 d	3,26 g	3,63 f	42,24 c	842,72 b	Sensível
Urutaí - GO	4,27 e	3,31 f	4,01 e	44,45 c	134,88 b	Intermediária
Urutaí - GO	4,70 b	4,01 b	3,97 e	55,13 c	441,30 a	Sensível
Urutaí - GO	14,29 a	15,28 a	7,14 b	100,00a	27,08 b	Sensível
Uberlândia-MG	3,64 e	16,67 a	15,38 a	85,25 a	5193,74 b	Sensível
Urutaí - GO	3,39 e	2,7 h	3,66 f	94,01 a	1883,82 a	Insensível
Edeia-GO	3,23 f	14,29 a	13,33 a	10,37 c	237,14 b	Sensível
Uberlândia-MG	4,72 b	4,03 b	3,99 e	51,50 c	443,30 a	Sensível
Uberlândia-MG	14,31 a	15,30 a	7,16 b	100,00 a	27,10 b	Sensível
Uberlândia-MG	3,66 e	16,69 a	15,40 a	55,42 c	5193,72 b	Sensível
Uberlândia-MG	3,37 e	2,68 h	3,64 f	45,01 c	1883,80 a	Insensível
Uberlândia-MG	3,30 f	14,27 a	13,31 a	70,35 b	237,12 b	Sensível
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,96074	0,80456	0,85824	0,68686	0,49094	
Bartlett (Homogeneidade)	32,955	45,827	33,762	53,698	71,43	
Valor F <sub>4,8</sub>	73,2994***	146,5007***	195,3292***	692,0756***	0,4915	
Coefficiente de Variação (%)	11,370	12,39	8,21	28,67	-	718,35860
Valor de Friedman	34,60328	38,60213	31,19012	31,47037	16,14385	

\*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si ao teste Tukey a P~0,05; coeficientes marcados em negritos representam os testes que os testes de médias foram implementados.

A piraclostrobina e o fluxapirroxade são uma estrobilurina e uma carboxamida, respectivamente, que são considerados com alto risco de desenvolver resistência (FRAC, 2017; Pereira et al. 2009). Devido a estarem entre os principais ingredientes ativos utilizados e a não demandar elevado número de mutações para adquirir resistência. Sendo assim enfatiza-se a importância de variar os métodos de controle, mantendo-se alerta as mudanças de sensibilidade (Silva et al. 2015).

Notasse ao analisar os isolados em diferentes doses que alguns obtiveram índices altos e baixos mesmo alterando a dose como é possível observar nos isolados Uberlândia-MG, Urutaí-GO e Edeia-GO que se destacaram com altos índices de crescimento em ao menos três dosagens inclusive na maior dose representada por 100 ppm, enquanto os isolados de Urutaí-GO apresentaram menores índices de crescimentos em ao menos 3 dosagens com destaque para o isolado Urutaí-GO que se manteve entre os isolados de menor crescimento em todas as dosagens utilizadas (Tabela 11).

Isolados com baixa sensibilidade aos ingredientes ativos testados representam grande risco de resistência, Ishi et al. (2016) encontrou isolados de *C. truncatum* com baixa sensibilidade a fluxapiroxade devido à grande utilização do ingrediente ativo no manejo de *Phakopsora pachyrhizi* e *Rhizoctonia solani* na região.

Com base nas médias de DL50 os isolados com maiores taxas de DL50 foram os isolados de Uberlândia-MG, URutaí-GO e Passo Fundo-RS e menores foram os isolados de Brasília-DF e Urutaí-GO. Ao realizar a análise de DL50 dos isolados observou-se que os isolados que apresentaram menores e maiores índices de sensibilidade foram respectivamente Uberlândia-MG (Sensível), Urutaí-GO (Sensível), Urutaí-GO (Sensível) e Passo Fundo-RS (Sensível) e Brasília-DF (Insensível), Urutaí-GO (Insensível), Brasília-DF (Insensível) e Passo Fundo-RS (Insensível) (Tabela 11).

### **3.4 Sensibilidade de isolados de *C. truncatum* oriundos de soja a trifloxistrobina + prothioconazol / Piraclostrobin + Fluxapiroxade / Piraclostrobin + Fluxapiroxade + Epoxiconazol.**

A área a baixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM) identificou que os isolados mais insensíveis a mistura de trifloxistrobina+prothioconazol foram os isolados de Urutaí-GO, enquanto que para a mistura de piraclostrobin + fluxapiroxade foi representado pelos isolados Urutaí-GO e Passo Fundo-RS, e para piraclostrobin + fluxapiroxade + epoxiconazol os maiores valores foram os isolados Passo Fundo-RS, Brasília-DF e Urutaí-GO. É possível analisar que os isolados de Urutaí-GO são insensíveis tanto a trifloxistrobina + prothioconazol e piraclostrobin + fluxapiroxade. Enquanto que para piraclostrobin + fluxapiroxade + epoxiconazol nenhum isolado foi insensível aos demais fungicidas.

É importante perceber que isso pode ter ocorrido devido o modo de ação semelhante de alguns destes fungicidas. Segundo a FRAC (2019) a piraclostrobin e

trifloxistrobina vêm do grupo das estrobilurinas que são inibidores de respiração no complexo 3, citocromo bc1 (fungicidas QoI, código FRAC 11). Enquanto que a epoxiconazol e protioconazol são triazóis, ou seja, são inibidores da síntese de ergosterol (fungicidas DMI, código FRAC 03). E por último o fluxapirroxade do grupo das carboxamidas, inibidores de respiração no complexo 2, dehydrogenase succinato (fungicidas SDHI, código FRAC 07).

Já os isolados sensíveis a trifloxistrobina+protioconazol foi representado pelos isolados Passo Fundo-RS, Urutaí-GO e Uberlândia-MG, enquanto que para piraclostrobina + fluxapirroxade foram os isolados de Urutaí-GO, Uberlândia-MG e Edeia-GO e por fim os isolados sensíveis a piraclostrobina + fluxapirroxade + epoxiconazol foram representados pelos isolados Urutaí-GO, Edeia-GO e Uberlândia-MG. Desta forma percebe-se que o isolado de Urutaí-GO é comum para ambos os fungicidas.

Em relação à taxa de crescimento micelial diário é possível analisar que para trifloxistrobina+protioconazol os isolados de Urutaí-GO e Brasília-DF, apresentaram as maiores médias, para piraclostrobina + fluxapirroxade os dados maiores foram os isolados de Urutaí-GO e os de d Passo Fundo-RS, enquanto que para piraclostrobina + fluxapirroxade + epoxiconazol foram os isolados Brasília-DF, Passo Fundo-RS e Urutaí-GO. Deste modo percebemos que o isolado de Urutaí-GO é comum aos dois primeiros fungicidas e o isolado de Brasília-DF é comum a trifloxistrobina+protioconazol e piraclostrobina + fluxapirroxade + epoxiconazol. Isto deve ocorrer devido aos fungicidas serem representados pelos menos grupos químicos o que deve conferir tanto a resistência como a suscetibilidade de genótipos aos fungicidas comerciais.

As menores TCM foram para os isolados de Passo Fundo-RS, Urutaí-GO, Uberlândia-MG e Brasília-DF a trifloxistrobina + protioconazol, foram os isolados Uberlândia-MG, Urutaí-GO, Edeia-GO, e Passo Fundo-RS a piraclostrobina + fluxapirroxade, e por fim os isolados de Edeia-GO, Urutaí-Go e Uberlândia-MG a piraclostrobina + fluxapirroxade + epoxiconazol. Onde o isolado de Urutaí-GO, foi novamente comum a todos os fungicidas estudados, confirmando que este é sensível a ambos fungicidas.

Segundo a FRAC (2019), o gerenciamento correto de manejo de controle é um componente crítico para retardar o desenvolvimento de populações resistentes, pela pressão de seleção exercida pela aplicação dos fungicidas, como manejo neste sentido

tem a rotação de modo de ação e a utilização de fungicidas com misturas de grupos químicos.

Quando analisou as doses em relação a área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial notasse que a dose que apresentou maior crescimento micelial foi a dose 0 ppm e menor dose 100 ppm para ambas as misturas de fungicidas estudadas. Este comportamento é justificado pelo fato que, o aumento progressivo da dose promove reduções no crescimento micelial, demonstrando a eficiência dos fungicidas no controle dos isolados. Silva (2017) observou que o aumento da dose dos fungicidas diminui o crescimento micelial e germinação dos esporos, apontando o fator de eficiência dos fungicidas.

Ao realizar a análise de DL50 dos isolados observou-se que os isolados que apresentaram destaque nos índices de sensibilidade foram os isolados de Passo Fundo-RS (Sensível), Edeia-GO (Sensível) e Urutaí-GO (Sensível) e Urutaí-GO (Intermediário), Passo Fundo-RS (Insensível) e Urutaí-GO (Insensível) para a mistura de trifloxistrobina + protioconazol. Já para piraclostrobina + fluxapiroxade foram destacados Uberlândia-MG (Sensível), Urutaí-GO (Sensível), Urutaí-GO (Sensível), Passo Fundo-RS (Sensível) e Brasília-DF (Insensível), Urutaí-GO (Insensível), Brasília-DF (Insensível) e Brasília-DF (Insensível). Enquanto que para a mistura piraclostrobina + fluxapiroxade + epoxiconazol foi destacado os isolados de Passo Fundo-RS (Sensível), Urutaí-GO (Sensível) Urutaí-GO (Sensível), Passo Fundo-RS (Sensível) e Brasília-DF (Insensível), Passo Fundo-RS (Insensível), Urutaí-GO (Insensível) e Edeia-GO (Insensível).

Analisando o resultado da situação das DL50 dos isolados, é possível verificar que existem, isolados que são comuns a mais de um fungicida possuindo a mesma classificação (como exemplo o isolado Brasília-DF). Já em outros casos, temos isolados considerados sensíveis a um fungicida comercial e insensível a outro. Como é o caso do isolado de Passo Fundo-RS, que é insensível a trifloxistrobina + protioconazol, e sensível a piraclostrobina + fluxapiroxade + epoxiconazol. Demonstrando assim, a variabilidade existente de sensibilidade de isolados de *Colletotrichum truncatum* a diversos fungicidas.

#### 4 CONCLUSÕES

- 1 - O aumento progressivo das doses promove reduções no crescimento micelial, demonstrando a eficiência dos fungicidas no controle dos isolados.
- 2 - O isolado de Urutaí-GO foi confirmado tanto pela área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial quanto pela taxa de crescimento micelial, como sensível a todos os fungicidas estudados apresentando as menores medias.
- 3 - Para a mistura trifloxistrobina + protriocanazol o isolado de Uurtaí-GO, foi o isolado considerado mais insensível, para a mistura piraclostrobina + fluxapirroxade o isolado mais insensível foi também o isolado Urutaí-GO, e para a mistura piraclostrobina + fluxapirroxade + epoxiconazol o isolado considerado mais insensível foi de Passo Fundo-RS.
- 4 - Pode verificar a grande variabilidade de sensibilidade de isolados *Colletotrichum truncatum* apresentam perante as diferentes moléculas utilizadas comercialmente para seu controle. E a importância de detecção de populações resistentes, que auxilia na implementação de estratégias de manejo.
- 5 - Outro (s) mecanismo (s) além da modificação do alvo-local do fungicida pode ser responsável pela sensibilidade diferencial das espécies de *Colletotrichum* aos fungicidas ISDH.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A. Doenças da soja (*Glycine max*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agonômica Ceres, 1997. v. 2, 706 p.
- AMORIM, L.; REZENDE, JAM; BERGAMIN FILHO, A. Controle químico. In **Manual de fitopatologia, princípios e conceitos**, Ouro Fino, MG: Editora Agronômica Ceres, 2018, p. 239–260.
- ANDRUS, C.F. & MOORE, W.D. *Colletotrichum truncata* (Schw.) n. comb. on garden and lima bean. **Phytopathology**, v. 25, p. 121-125, 1935.
- ARMSTRONG-CHO, C. L.; BANNIZA, S. *Glomerella truncata* sp. nov., the teleomorph of *Colletotrichum truncatum*. **Mycological Research**, v. 110, n. 8, p. 951-956, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.06.002>.
- AZEVEDO, L. A. S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. Editora Novartis, São Paulo, SP, 114 p. 1998.

BAILEY, J. A., JEGER, M. J. **Colletotrichum: Biology, Pathology and Control**. Wallingford, UK: CAB International, 1992.

CALZADA, C. T.; TUSSEL, T. T.; CIAPARA, I. H.; POOT, E. H.; MEX, R.M.; GARCEZ, A. N.; BRITO, D. P. Characterization of *Colletotrichum truncatum* from papaya, Pepper and physic nut based on phylogeny, morphology and pathogenicity. **Journal Plant Pathology**, v. 64, n. p. 831 – 830, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppa.12800>.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. **Introduction to plant disease epidemiology**. 1a. Ed. Org. CAMPBELL, CL; MADDEN. New York, NY: Willey & Sons. 1990.

CAMPOS, H. D. O.; SILVA, L. H. C. P.; SILVA, J. R. C. Soja: Antracnose. **Cultivar Grandes Culturas**, v. 7, n. 83, p. 26-28, 2006.

CHUNG, W. H.; ISHII, H.; NISHIMURA, K.; FUKAYA, M.; YANO, K.; KAJITANI, Y. Fungicide sensitivity and phylogenetic relationship of anthracnose fungi isolated from various fruit crops in Japan. **Plant Disease**, v. 90, n. 4, p. 506-512, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-90-0506>.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos> Acesso em: 11 jan. 2021.

COSTA, I. F. D.; BALARDIN, R. S.; MEDEIROS, L. A. M.; LENS, G.; GULART, C. A.; ZEMOLIN, C. R.; SILVA, T. M. B. Reação de germoplasma comercial de soja a *Colletotrichum truncatum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 1, p. 47-50, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762009000100009>.

DAMM, U., WOUDEBERG, J.H.C., CANNON, P.F.; CROUS, P.W. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 45-87, 2009.

DEAN, A.; 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.R. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>.

DIAO, Y.; ZHANG, C.; XU, J.; LIU, L.; MTUNG, O. G.; LIU, X. Genetic differentiation and recombination among geographic populations of the fungal pathogen *Colletotrichum truncatum* from chili peppers in China. **Evolutionary Applications**, v. 8, n. 1, p. 18-23, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111%2Feva.12233>.

DIAS, M. B.; POZZA, E. A.; ABREU, M. S.; MIRANDA, E. O. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de *Coffea arabica* L.. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 3, p. 545-552, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000300006>.

FERNANDES M. C. A.; SANTOS, A. S.; RIBEIRO, R. L. D. Sensibilidade ao fungicida benomyl in vitro de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes

de frutos de pimentão, jiló e berinjela. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, n. 2, p. 89-95, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542009000700059>.

FERREIRA, J. B.; ABREU, M.S.; PEREIRA, I. S.; FERNANDES, K. D.; PEREIRA, R. B. Sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* (Mancha manteigosa do cafeeiro) a diferentes concentrações de fungicidas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 2052-2058, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542009000700059>.

FRAC. **Comitê de ação a resistência a fungicidas**. Disponível em: <https://www.frac-br.org/soja>. Acesso em: 20 nov. 2020.

FRAC. FRAC Code List, 2017: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). 2017. Disponível em: <http://www.fracinfo/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2017.pdf?sfvrsn=2> Acesso: 31 out. 2020.

GALLI, J. A.; PANIZZI, R. C.; FESSEL, S. A.; SIMONI, F.; ITO, M. F. Efeito de *Colletotrichum dematium* var. *truncata* e *Cercospora kikuchii* na germinação de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 27, n. 1, p. 182-187, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222005000200026>.

GODOY, C. V.; ULTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C. B.; BORGES, E. P.; ANDRADE JR, C. R.; SIQUERI, F. V.; JULIATTI, F. C.; FEKSA, H. R.; GRIGOLLI, J. F. J.; JUNIOR, J. D.; CARNEIRO, L. C.; SILVA, H. C. P.; SATO, L. N.; CANTERI, M. G. VOLF, M. R. DEBORTOLI, M. P. GOUSSAIN, M.; MARTINS, M.C.; BALARDIN, R. S.; FURLAN, S. H.; MADALOSSO, T.; CARLIN, V. J.; VENANCIO, W. S. Eficiência de fungicidas para o controle de ferrugem-asiática da soja, *Phakospora pachyrhizi*, na safra 2015/2016: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. **Circular Técnica 119, EMBRAPA SOJA**, p. 1-6, 2016.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importação e controle**. 2ed. rev. e ampliada. Brasília, DF. Embrapa, 2018.

GUINI, R.; KIMATI, H. **Resistencia de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 78, 2000.

HAMADA, N. A.; KATSURAYAMA, Y.; DANTAS, A. C. M. Sensibilidade “in vitro” ao benomyl por isolados de *Colletotrichum* spp. associados à mancha da gala em macieira. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 5, p. 347-351, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1982-56762009000500010>.

HENNING, A. A., ALMEIDA, A. M. R., GODOY, C. V., SEIXAS, C. D. S., YORINORI, J. T., COSTAMILAN, L. M., FERREIRA, L. P., MEYER, M. C., SOARES, R. M., DIAS, W. P. **Manual de identificação de doenças de soja**, 5ª ed. Londrina: Embrapa Soja, 2014.

ISHII, H.; ZHEN, F.; HU, M.; LI, X.; SCHNABEL, G.; Efficacy of SDHI fungicides, including benzovindiflupyr, against *Colletotrichum* species. **Pest Management Science**, v. 72, n. 10, p. 1844-1853, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4216>.

KATOCH, A.; PRABHAKAR, C. S.; SHARMA, P. N. Metageographic population analysis of *Colletotrichum truncatum* associated with chili fruit rot and other hosts using ITS region nucleotide sequences. **Journal Plant Biochemistry and Biotechnology**, v. 25, p. 64-72, 2016. DOI: 10.1007 / s13562-015-0310-1.

LOPES, L. N. S.; SILVA, A. S.; PEREIRA, C. C. O.; MENEZES, I. P. P.; PAZ LIMA, M. L. Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Multi-Science Journal**; v. 1, n.1, p.106-114, 2015. DOI: <https://doi.org/10.33837/msj.v1i1.46>.

MAHMUDI, F.; KADIR, J.; PUTEH, A. Genetic diversity and pathogenic variability of *colletotrichum truncatum* causing anthracnose of pepper in Malaysia. **Journal of Phytopathology**, v. 162, n. 162, n. 7, p. 456-465, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12213>.

MANANDHAR, J. B.; HARTMAN, G. L. Anthracnose. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Eds.). **Compendium of Soybean Diseases**. 4. ed. Minnesota: Aps Press, 1999. p. 13-14.

OLIVEIRA, G.M.; PEREIRA, D.D.; CAMARGO, L.C.M.; BALAN, M.G.; CANTERI, M.G.; IGARASHI, S.; SAAB, O.J.G.A. Dose e taxa de aplicação de fungicida no controle da ferrugem da folha (*Puccinia triticina*) e da mancha amarela (*Pyrenophora tritici repentis*) do trigo. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 1, p. 17-30, 2015. DOI: 10.5433/1679-0359.2015v36n1p17.

OLIVEIRA, S.C.; CASTROAGUDIN, V.L.; MACIEL, J.L.N.; PEREIRA, D.A.S.; CERESINI, P.C. Resistência cruzada aos fungicidas IQo azoxistrobina e piraclostrobina no patógeno do brusone do trigo *Pyricularia oryzae* no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v.41, n.4, p.298-304, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2072>.

PEREIRA, D.F.; NEVES, W.S.; ZAMBOLIM, L. Resistencia de fungos a fungicidas inibidores de quinona. **Revista Tropica, Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 3, n. 2, p. 24-34, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.0000/rtcab.v3i2.36>.

RAMDIAL, H.; HOSSEIN, F. N.; RAMPERSAD, S. N. Detection and Molecular Characterization of Benzimidazole Resistance Among *Colletotrichum truncatum* Isolates Infecting Bell Pepper in Trinidad. **Plant Disease**, v. 100, n. 6, p. 1142-1152, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-15-0995-RE>.

REIS, E.M.; BARUFFI, D.; REMOR, L.; ZANATTA, M. Decomposition of corn and soybean residues under field conditions and their role as inoculum source. **Summa Phytologica**, v. 37, n. 1, p. 65-67, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052011000100011>.

ROGÉRIO, F.; CIAMPI-GUILLARDI, M.; BARBIERI, M. C.; BRAGANÇA, C.A.; SEIXAS, C. D.; ALMEIDA, A. M.; MASSOLA, N. S. JR. Phylogeny and variability of *Colletotrichum truncatum* associated with soybean anthracnose in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 2, p. 402-415, 2017. DOI:10.1111 / jam.13346.

SANT'ANNA, J. R.; MIYAMOTO, C. T.; ROSADA, L. J.; FRANCO, C.C.S.; KANESHIMA, E. N.; CASTRO-PRADO, M, A. A. Genetic relatedness of Brazilian *Colletotrichum truncatum* isolates assessed by vegetative compatibility groups and RAPD analysis. **Biological Research**, v. 43, n. 1, p. 51-62, 2010. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602010000100007>.

SEDDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. **Soja, do plantio a colheita**. 1a. Ed. org. A. Seddiyama, T., Silva, F., Borém. Viçosa, MG: Editora UFV. 2015.

SILVA, B. S.; **Sensibilidade de *Colletotrichum truncatum* da soja a fungicidas**. Dissertação (mestrado)- Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, 2018.

SILVA, D. D.; CROUS, P.W.; ADES, P. K.; HYDE, K. D.; TAYLOR, P. W. J. Life styles of *Colletotrichum* species and implication for plant biosecurity. **Fungal Biology Reviews**, v.31, n.3, p. 155-168, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2017.05.001>.

SILVA, L. H. C. P. DA, CAMPOS, H. D., SILVA, J. R. C., E REIS, E. M. Control of Asian soybean rust with mancozeb, a multi-site fungicide. **Summa Phytopathology**. v.41, p. 64–67, 2015. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/1957>.  
SINCLAIR, J. B.; SHURTLEFF, M. C. **Compendium of soybean diseases**. 3 ed. Si. Paul: APS Press, 1975.

SIVARAJAN, S.; MAHARLOOEI, M.; BAJWA, S. G.; NOWATZKI, J. Impact of soil compaction due to wheel traffic on corn and soybean growth, development and yield. **Soil and Tillage Research**, v. 175, p. 234-243, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.still.2017.09.001>.

TOZZE JUNIOR, H. J.; MELLO, B. A.; MASSOLA-JUNIOR, N. S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanaceas. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 1, p. 77-79, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052006000100011>.

VELHO, A. C.; ALANIZ, S.; CASANOVA, L.; MONDINO, P.; STANIK, M. J. New insights into the characterization of *Colletotrichum* species associated with apple diseases in southern Brazil and Uruguay. **Fungal Biology**, v. 119, n. 4, p. 229-244, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.12.009>.

WEDGE, D. E.; SMITH, B. J.; QUEBEDEAUX, J. P.; CONSTANTIN, R. J. Fungicide management strategies for control of strawberry fruit rotdiseases in Louisiana and Mississippi. **Crop Protection**, v. 26, n. 9, p. 1449-1458, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.12.007>.

WONG, F. P.; MIDLAND, S. L.; Sensitivity Distributions of California populations of *Colletotrichum cereale* to the DMI fungicides propiconazole, myclobutanil, tebuconazole, and triadimefon. **Plant Disease**, v. 91, n. 12, p. 1547-1555, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-12-1547>.

YOKOSAWA, S.; EGUCHI, N.; KONDO, K.; SATO, T. Phylogenetic relationship and fungicide sensitivity of members of the *Colletotrichum gloeosporioides* species

complex from apple. **Journal of General Plant Pathology**, v. 83, p. 291–298, 2015. DOI: 10.1007/s10327-017-0732-9.

ZANATTO, I. B.; BONALDO, S. M.; PEREIRA, C. S. Fungicidas e extrato etanólico de própolis no controle de doenças de final de ciclo da cultura da soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n.1, p. 165-174, 2018. DOI: <https://doi.org/10.19084/RCA17062>.

ZHANG, C.; DIAO, Y.; WANG, W.; HAO, J.; IMRAN, M.; DUAN, H.; LIU, X.; Assessing the risk for resistance and elucidating the genetics of *Colletotrichum truncatum* that is only sensitive to some DMI fungicides. **Frontiers in Microbiology Journal**, v. 8, p. 1-11, 2017. DOI: 10.3389 / fmicb.2017.01779.

ZUNTINI, B.; ALVAREZ, R. C. F.; THEODORO, G. F.; ZUFFO, A. M. Effect of adding fungicide to mixtures of triazoles and strobilurins in the control of downy mildew and Asian soybean rust. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 49, n. 1 p. 1-9, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632019v4953688>.