

MAYCKELL HAMED PALHARES BORGES

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Macrophomina  
phaseolina* À FLUXAPIROXADE+PIRACLOSTROBINA.**

URUTAÍ – GOIÁS

2023

MAYCKELL HAMED PALHARES BORGES

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Macrophomina phaseolina* À FLUXAPIROXADE+PIRACLOSTROBINA.**

Monografia apresentada  
ao IF Goiano Campus Urutaí como  
parte das exigências do Curso de  
Agronomia para obtenção do título  
de Bacharelado em Agronomia.

Orientador: Prof. D.Sc. Milton Luiz da Paz Lima

URUTAÍ - GOIÁS

2023

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

BM467s      Borges, Mayckell Hamed Palhares  
                    Sensibilidade de isolados de *Macrophomina*  
                    *phaseolina* a piraclostrobina+fluxapiraxade. /  
                    Mayckell Hamed Palhares Borges; orientador Milton  
                    Luiz da Paz Lima Lima. -- Urutaí, 2023.  
                    44 p.

                    TCC (Graduação em Bacharelado em Agronomia) --  
                    Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, 2023.

                    1. Podridão-carvão. 2. Insensibilidade. 3.  
                    Tiguera. 4. *Glycine max.* I. Lima, Milton Luiz da Paz  
                    Lima, orient. II. Título.



**INSTITUTO FEDERAL GOIANO**

Campus Urutaí

Rodovia Geraldo Silva Nascimento, Km 2,5, Zona Rural, CEP 75790-000, Urutaí (GO)

CNPJ: 10.651.417/0002-59 - Telefone: (64) 3465-1900

**ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

Na presente data realizou-se a sessão pública de defesa do Trabalho de Conclusão de Curso intitulada **Sensibilidade de isolados de *Macrophomina phaseolina* a fluxaproxade+piraclostrobina** apresentada pelo aluno **Mayckell Hamed Palhares Borges (2019101200240246)** do Curso **Bacharelado em Agronomia (Campus Urutaí)**. Os trabalhos foram iniciados às 09:00 pelo Professor presidente da banca examinadora, constituída pelos seguintes membros:

- **Prof Dr. Milton Luiz da Paz Lima** (Orientador)
- **Eng Agr. MSc. Erica Castro Costa** (Examinador Externo)
- **Eng Agr. MSc. Cleberly Evangelista dos Santos** (Examinador Externo)

A banca examinadora, tendo terminado a apresentação do conteúdo do Trabalho de Conclusão de Curso, passou à arguição do candidato. Em seguida, os examinadores reuniram-se para avaliação e deram o parecer final sobre o trabalho apresentado pela aluno, tendo sido atribuído o seguinte resultado:

Aprovado                                     Reprovado                                    Nota (quando exigido):    **9,13**

**Observação / Apreciações:**

---

---

---

Proclamados os resultados pelo presidente da banca examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, eu **Milton Luiz da Paz Lima** lavrei a presente ata que assino juntamente com os demais membros da banca examinadora.

URUTAÍ / GO, 06/06/2023

**Prof Dr. Milton Luiz da Paz Lima**

Documento assinado digitalmente

MILTON LUIZ DA PAZ LIMA  
Data: 13/06/2023 09:51:13-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Eng Agr. MSc. Erica Castro Costa**

Documento assinado digitalmente

ERICA DE CASTRO COSTA  
Data: 06/06/2023 11:10:53-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Eng Agr. MSc. Cleberly Evangelista dos Santos**



Ficha de avaliação de TC – Curso de Agronomia

Aluno(a): Mayckell Hamed Palhares Borges

Examinador(a): Érica de Castro Costa

Data: 06 de junho de 2023

TRABALHO ESCRITO	NOTA (0 a 1,0)
1. Observa-se uma padronização na formatação do trabalho?	1,0
2. A redação é clara e organizada?	0,9
3. Há especificação clara dos objetivos a serem alcançados?	0,9
4. É feita uma relação deste estudo com outros trabalhos realizados na área? O número e natureza destes trabalhos são adequados?	0,8
5. A metodologia é adequada ao propósito do trabalho? Permite alcançar os objetivos?	0,9
6. A apresentação e discussão dos resultados são realizadas de forma organizada? Está articulada com a teoria e/ou com outros estudos?	0,8
7. A conclusão é clara e coerente com os objetivos?	0,7
APRESENTAÇÃO	
8. A apresentação segue uma sequência adequada? Permite a compreensão do trabalho?	0,9
9. O aluno conseguiu expressar as principais ideias do trabalho?	1,0
10. Existiu uma compreensão dos questionamentos propostos e clareza nas respostas do aluno?	1,0
<b>Nota final (somatória das notas dos itens anteriores)</b>	<b>8,9</b>

Assinatura do Examinador: Érica de Castro Costa



Ficha de avaliação de TC – Curso de Agronomia

Aluno(a): Mayckell Hamed Palharesborges

Examinador(a): Cleberly Evangelista dos Santos

Data: 06 /06 /2023

TRABALHO ESCRITO	NOTA (0 a 1,0)
1. Observa-se uma padronização na formatação do trabalho?	8
2. A redação é clara e organizada?	8
3. Há especificação clara dos objetivos a serem alcançados?	9
4. É feita uma relação deste estudo com outros trabalhos realizados na área? O número e natureza destes trabalhos são adequados?	7
5. A metodologia é adequada ao propósito do trabalho? Permite alcançar os objetivos?	9
6. A apresentação e discussão dos resultados são realizadas de forma organizada? Está articulada com a teoria e/ou com outros estudos?	9
7. A conclusão é clara e coerente com os objetivos?	9
APRESENTAÇÃO	
8. A apresentação segue uma sequência adequada? Permite a compreensão do trabalho?	10
9. O aluno conseguiu expressar as principais ideias do trabalho?	10
10. Existiu uma compreensão dos questionamentos propostos e clareza nas respostas do aluno?	9,8
<b>Nota final (somatória das notas dos itens anteriores)</b>	<b>8,88</b>

Assinatura do Examinador: Cleberly E. dos Santos



Ficha de avaliação de TC – Curso de Agronomia

Aluno(a): Mayckell Hamed Palhares Borges

Examinador(a): Milton Luiz da Paz Lima

Data: 06 / 06 /2023

TRABALHO ESCRITO	NOTA (0 a 1,0)
1. Observa-se uma padronização na formatação do trabalho?	1
2. A redação é clara e organizada?	1
3. Há especificação clara dos objetivos a serem alcançados?	1
4. É feita uma relação deste estudo com outros trabalhos realizados na área? O número e natureza destes trabalhos são adequados?	0,9
5. A metodologia é adequada ao propósito do trabalho? Permite alcançar os objetivos?	1
6. A apresentação e discussão dos resultados são realizadas de forma organizada? Está articulada com a teoria e/ou com outros estudos?	0,9
7. A conclusão é clara e coerente com os objetivos?	0,9
APRESENTAÇÃO	
8. A apresentação segue uma sequência adequada? Permite a compreensão do trabalho?	1,0
9. O aluno conseguiu expressar as principais ideias do trabalho?	0,9
10. Existiu uma compreensão dos questionamentos propostos e clareza nas respostas do aluno?	1,0
<b>Nota final (somatória das notas dos itens anteriores)</b>	<b>9,6</b>

Assinatura do Examinador: Milton Luiz da Paz Lima

## Folha de aprovação Repositório

MAYCKELL HAMED PALHARES BORGES

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Macrophomina phaseolina* À FLUXAPIROXADE+PIRACLOSTROBINA**

Monografia apresentada  
ao IF Goiano-Campus Urutaí, como  
parte das exigências do Curso de  
Bacharelado em Agronomia do  
título de bacharelado em  
Agronomia.

Aprovado em 22 de maio de 2023

---

M.Sc. Erica Castro Costa  
Universidade de Brasília

---

Cleberly Evangelista dos Santos  
Universidade de Brasília

---

Orientador Prof. Dr. Milton Luiz da Paz Lima  
Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí

URUTAÍ – GOIÁS  
2023

Dedico...

Em especial aos meus familiares, e a todo corpo docente do instituto federal goiano, ao meu orientador Dr. Milton Lima pelo apoio oferecido em todo o meu período de graduação.

## AGRADECIMENTOS

Sou grato por todos que passaram pelo meu caminho ao longo do meu período de formação, principalmente a todos os professores que me passaram os seus conhecimentos e ensinamentos, além dos meus familiares e amigos que sempre me apoiaram e deram forças nos momentos mais delicados.

Deixo meus agradecimentos ao **IF Goiano Campus Urutaí** o qual despõe de um excelente corpo docente ao dispor dos alunos.

Gratidão aos meus amigos Luís Felipe Ribeiro, Marcos Felipe de Souza e Leandra Aparecida Oliveira que foram essenciais nessa caminhada, dispondo de seus conhecimentos, paciência e companheirismo durante o período.

Gratidão aos meus familiares, principalmente a minha mãe, dona Francisca das Chagas Palhares que sempre me apoiou com força e me passou os valores necessários para seguir minha caminhada.

Também deixo aqui minha gratidão a todos os colegas de graduação, pois sempre dividimos os conhecimentos.

Ao fim, deixo aqui minha total gratidão a todos que passaram pelo meu caminho nessa jornada.

“É difícil abater uma pessoa que nunca desiste”

(Babe Ruth, jogador de beisebol)



## RESUMO

BORGES, M.H.P. Sensibilidade de isolados de *Macrophomina phaseolina* a piraclostrobina+fluxapiróxade. Trabalho de conclusão de curso. 2023, 44p.

O fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* é o agente causal da podridão-carvão em diversas culturas como soja, feijão, milho e algodão. Causa significativas perdas na produção, sendo por muitos considerada um fitopatógeno emergente que sua sensibilidade a moléculas ser influenciada por grupos químicos direcionados para outros fitopatógenos. O objetivo desse trabalho foi avaliar a fisiologia do crescimento e sensibilidade de isolados de *M. phaseolina* oriundos de soja. O experimento constituído por oito isolados representados por IF 195, IF 202, IF 249, IF 203, IF 191, IF 201 (outgroup *Colletotrichum truncatum*, Passo Fundo, RS), IF 254 e IF 273, oriundos de tiguera de localizadas Silvânia (GO) e Vianópolis, foram submetidos à cinco dosagens (0; 0,1; 1; 10 e 100 ppm ou  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) do fungicida fluxapiróxade [ $167 \text{ g L}^{-1}$ ] + piraclostrobina [ $333 \text{ g L}^{-1}$ ] (Orkestra®). As alíquotas foram adicionadas ao meio batata-dextrose-ágar (BDA) à 50 °C. Cada dosagem apresentou três repetições, totalizando 120 unidades experimentais. Avaliou-se diariamente o diâmetro da colônia (mm) durante o período de sete dias, permitindo calcular a taxa de crescimento micelial (TCM,  $\text{mm dia}^{-1}$ ), cálculo da área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM), e por fim, utilizando o pacote drc do programa R Studio, calculou-se via regressão o EC50 ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Os Isolados 195, 203, 254 e 273 apresentaram um menor EC50, comparando com os isolados 202, 249, 191 e 201. Não houve diferença significativa entre os isolados dos 3-7 DAI, AACPCM e TCM, somente entre as dosagens para as variáveis respostas. Os isolados IF 201 [ $26,40 \mu\text{g mL}^{-1}$ ], IF 191 [ $24,57 \mu\text{g mL}^{-1}$ ] e IF 202 [ $16,74 \mu\text{g mL}^{-1}$ ] apresentaram as maiores dosagens letais capazes de inibir o crescimento micelial a 50%, sendo estes isolados da amostra considerados mais insensíveis a mistura fluxapiróxade + piraclostrobina. Considerando *C. truncatum* ser um patógeno da parte aérea, esse tem maior contato com moléculas do que *M. phaseolina*, um patógeno do colo e solo, havendo menor seleção comparativa de isolados para resistência a fluxapiróxade+piraclostrobina.

**Palavras chave:** Podridão-carvão; Insensibilidade; Tiguera; *Glycine max*.

## ABSTRACT

BORGES, M.H.P. Sensitivity of *Macrophomina phaseolina* isolates to pyraclostrobin + fluxapyroxad. Finaal work. 2023, 44p.

The plant pathogen *Macrophomina phaseolina* is the causal agent of charcoal rot in several crops such as soybeans, beans, corn, and cotton. It causes significant losses in production, being considered by many as an emerging plant pathogen that its sensitivity to molecules is influenced by chemical groups directed to other plant pathogen. The objective of this work was to evaluate the growth physiology and sensitivity of *M. phaseolina* isolates from soybean. The experiment consisted of eight isolates represented by IF 195, IF 202, IF 249, IF 203, IF 191, IF 201 (outgroup *Colletotrichum truncatum*, Passo Fundo, RS), IF 254 and IF 273, from secondary's soybeans located in Silvânia (GO) ) and Vianópolis, were submitted to five dosages (0; 0.1; 1; 10 and 100 ppm or  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) of the fungicide fluxapyroxad [ $167 \text{ g L}^{-1}$ ] + pyraclostrobin [ $333 \text{ g L}^{-1}$ ] (Orkestra<sup>®</sup>). The aliquots were added to the potato-dextrose-agar (PDA) medium at 50 °C. Each dosage presented three repetitions, totaling 120 experimental units. The colony diameter (mm) was evaluated daily during the seven-day period, allowing calculation of the mycelial growth rate (TCM, mm day<sup>-1</sup>), calculation of the area under the mycelial growth progress curve (AACPCM), and finally, using the drc package of the R Studio program, the EC50 ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) was calculated via regression. Isolates 195, 203, 254 and 273 had a lower EC50 compared to isolates 202, 249, 191 and 201. There was no significant difference between isolates from 3-7 DAI, AACPCM and TCM, only between dosages for the variables answers. The isolates IF 201 [ $26.40 \mu\text{g mL}^{-1}$ ], IF 191 [ $24.57 \mu\text{g mL}^{-1}$ ] and IF 202 [ $16.74 \mu\text{g mL}^{-1}$ ] showed the highest lethal dosages capable of inhibiting growth mycelial at 50 %, and these isolates from the sample were considered more insensitive to the fluxapyroxad + pyraclostrobin mixture. Considering that *C. truncatum* is a pathogen of the aerial part, it has more contact with molecules than *M. phaseolina*, a pathogen of the collar and soil, with less comparative selection of isolates for resistance to fluxapyroxad+pyraclostrobin.

Key-words: Charcoal rot; insensibility; secondary soybeans, *Glycine max*.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>12</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>13</b>
<b>SUMÁRIO.....</b>	<b>14</b>
<b>LISTAGEM DE TABELAS .....</b>	<b>15</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>19</b>
<b>À HOSPEDEIRA – SOJA:.....</b>	<b>19</b>
<b>À DOENÇA – PODRIDÃO CARVÃO OU NEGRA DAS RAÍZES:.....</b>	<b>23</b>
<b>CONTROLE QUÍMICO: FLUXAPIROXADE + PIRACLOSTROBINA:.....</b>	<b>26</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>31</b>
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....</b>	<b>39</b>

## LISTAGEM DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Listagem de isolados de <i>Macrophomina phaseolina</i> obtidos a partir de soja tiguera, códigos e cidades coletadas.....	28
<b>Tabela 2.</b> Médias do diâmetro da colônia (mm) nas dosagens de fluxapiraxade+piraclostrobina, em diferentes dias após a inoculação (DAI), área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM), taxa de crescimento micelial ( TCM, mm dia <sup>-1</sup> ) e concentração efetiva capaz de inibir o crescimento micelial à 50 % (EC50, µL mL <sup>-1</sup> ) de diferentes isolados de <i>Macrophomina phaseolina</i> *.....	32
<b>Tabela 3.</b> Médias dos diâmetros das colônias (mm) aos sete dias de avaliação e em suas respectivas concentrações de fluxapiraxade+ piraclostrobina, concentração efetiva capaz de inibir o crescimento micelial à 50 % (EC50, µL mL <sup>-1</sup> ), equação de regressão linear e coeficientes de testes paramétricos e não paramétricos, e coeficiente de variação (CV) de diferentes isolados de <i>Macrophomina phaseolina</i> *.....	33
<b>Tabela 4.</b> Médias da área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM) aos sete dias após a inoculação em suas respectivas concentrações de fluxapiraxade+trifloxistrobina, coeficientes dos testes estatísticos paramétricos e não paramétricos, equação de regressão linear e a concentração efetiva capaz de inibir o crescimento micelial à 50 % (EC50, µL mL <sup>-1</sup> )* de diferentes isolados de <i>Macrophomina phaseolina</i> .....	33
<b>Tabela 5.</b> Médias de taxa de crescimento micelial (TCM em mm dia <sup>-1</sup> ) relacionado a concentração dos ativos, a EC50, testes estatísticos paramétricos e a equação de regressão linear*.....	34

## LISTAGEM DE FIGURAS

- Figura 1.** Médias do diâmetro da colônia (mm) em diferentes dias após a inoculação (DAI) de 3 diferentes isolados de *Macrophomina phaseolina* avaliados. .... 35
- Figura 2.** Médias da Área Abaixo da Curva de Progresso de Crescimento Micelial (AACPCM) dos isolados de *Macrophomina phaseolina* submetidos a diferentes dosagens de fluxapiraxade+piraclostrobina. .... 36
- Figura 3.** Médias taxa de crescimento micelial (mm dia<sup>-1</sup>, TCM) de diferentes isolados de *Macrophomina phaseolina* avaliados..... 37
- Figura 4.** Médias da concentração efetiva capaz de inibir o crescimento micelial a 50% (EC<sub>50</sub>, µL mL<sup>-1</sup>) de diferentes isolados de *Macrophomina phaseolina* avaliados. .... 38

## INTRODUÇÃO

Com consciência ou sem ela, através da escolha de cultivares que apresentem, ou não, resistência ou suscetibilidade e, em conjunto com as práticas culturais usadas, pode-se aumentar ou diminuir a incidência de doenças em plantas (REIS *et al.*, 2011).

Os problemas relacionados a doenças na soja vêm crescendo anualmente no Brasil. É citado que isso é consequência do crescimento da área plantada no país, principalmente quando se fala em novos ambientes, uso de cultivares com pouca variação genética e ao sistema de monocultura que é empregado em algumas regiões ou até mesmo a sucessão de soja verão e milho safrinha, o que ocorre muito nas regiões centrais do Brasil e que pode levar a seleção natural de pragas e doenças (BARROS, 2008).

A importância de cada patógeno varia de ano para ano, isso pode ocorrer entre regiões ou até mesmo entre talhões de uma propriedade, o que pode depender da cultivar utilizada, da época da semeadura, da tecnologia aplicada e a variação climática de diferentes safras (BARROS, 2008).

Existe uma enorme diversidade de ambiente no reino fungi: terrestre, marinho, dulçaquícola e aéreo, se distribuindo por todo o planeta, existindo relatos de existência de organismos em regiões polares. Esses microrganismos são diversificados em suas formas, ciclos de vida e do seu modo de sobreviver. Em sua maioria são sapróbios, parasitas (de plantas, animais e de outros fungos), simbioses mutualistas (como líquenes, micorrizas e ainda associações com insetos e outros animais) e predadores de outros microrganismos (AZEVEDO e BARATA, 2018).

Segundo Rhoden *et al.* (2019) as interações existentes entre os microrganismos e as plantas possuem uma importância relevante para a compreensão das interações orgânicas que ocorrem junto ao processo evolutivo, o que permite o processo de infecção causada por microrganismos às plantas, processo que pode ser causado por mecanismos coevolutivos.

Os fungos tem capacidade de adentrar de forma direta na epiderme das plantas através das aberturas naturais ou causadas de forma mecânica, ou por meio de estruturas como os apressórios com a utilização de enzimas degradadoras de parede celular. O estômato também pode ser considerado como uma estrutura que pode servir de porta de entrada para organismos fitopatogênicos (RHODEN *et al.*, 2019). Danos causados por nematoides também podem levar a entrada de microrganismo nas plantas.

Pode-se dizer que a adesão é considerada como pré-requisito durante o início da infecção de fungos (NICHOLSON e EPSTEIN, 1991). As etapas conceituadas como atração e

contato entre o patógeno e o hospedeiro demonstram as fases de reconhecimento da interação. Em ordem cronológica, a primeira etapa consiste na adesão, ou seja, entrada no hospedeiro e crescimento do tubo germinativo sobre o mesmo, sucessivamente as pontas das hifas se alteram em opressórios aumentando a pressão de turgor e alavancando a estrutura de penetração denominada como “*peg*”. Além disso a ponta da hifa secreta enzimas que degradam a parede celular que facilita a penetração (MENDGEN *et al.*, 1996).

A podridão negra das raízes causada pela *Macrophomina phaseolina* é a doença radicular mais recorrente em áreas cultivadas com soja (TONINN *et al.*, 2013). A *M. phaseolina* (Tassi) Goid. é um microrganismo membro da família Botryosphaeriaceae. Nenhuma subespécie ou raça com base em suas características foram identificadas para esse fungo (DHIAGRA *et al.*, 1978).

Os fungicidas podem apresentar classificações distintas de acordo com a sua mobilidade dentro da planta. Existem os fungicidas sistêmicos ou móveis que apresentam a capacidade de se movimentar dentro do sistema vascular da planta, enquanto os fungicidas que não apresentam potencial de movimentação na planta são denominados de fungicidas tópicos ou imóveis (AMORIN *et al.*, 2011). Existe ainda aqueles demonstram movimentação limitada sem envolvimento do sistema vascular, os quais são denominados de translaminares que tem potencial de penetrar o limbo foliar que age na face oposta do local de aplicação, e os mesostêmicos que apresentam potencial de redistribuição na superfície foliar que apresenta afinidade com a cera foliar e ação em profundidade, agindo no mesófilo da folha através da ação de sua fase de vapor (REIS *et al.*, 2010).

A eficiência do controle químico se dá em relação a facilidade de aplicação quanto ao resultado rápido o que leva a grande utilização de fungicidas por produtores nas últimas década (REIS *et al.*, 2010).

A utilização de defensivos químicos não pode ser considerado como algo que seja totalmente prejudicial ao meio ambiente. Esses são indispensáveis para o manejo integrado de pragas e doenças e indispensáveis para a produção de alimentos de qualidade e em grande escala. A produção de algumas culturas seria impossível sem a utilização de fungicidas em determinadas épocas e locais que apresentam a incidência de doenças (AMORIM *et al.*, 2011).

## OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICOS

O objetivo geral foi avaliar a dosagem letal e sensibilidade de isolados de *Macrophomina phaseolina* oriundos de soja.

O objetivo específico foi identificar as EC50 de cada isolado e assim como classificá-los em níveis de sensibilidade e/ou resistência a mistura fluxapiraxade+piraclostrobina.

O objetivo específico foi identificar os isolados que possuem maiores e menores atividades fisiológicas em diferentes concentrações a mistura fluxapiraxade+piraclostrobina.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### À Hospedeira – soja:

De acordo com a classificação botânica que foi proposta por A. Cronquist, a soja é pertencente à família Fabaceae, gênero *Glycine*, espécie (*Glycine max* (L.) Merrill). Trata-se de uma planta C3, que durante o processo de fotossíntese utiliza apenas o ciclo de Calvin-Benson para a fixação de CO<sub>2</sub>, sabendo-se que o primeiro produto da fixação de CO<sub>2</sub> é um composto de três carbonos, denominado de 3-fosfoglicerato (ALIYEV, 2010).

A soja é considerada como uma das culturas mais produzidas do mundo, com relatos de produção em solos chineses datados de cinco mil anos atrás. Existem discussões em relação ao centro de origem da planta, discutindo-se que ela tenha surgido no leste asiático, mas atualmente considera-se que o centro de origem da oleaginosa seja na região central da China como núcleo genético secundário (TEJO *et al.*, 2019). A soja é considerada como uma planta herbácea, anual, apresentando germinação epígena, com crescimento ereto ao prostrado, possuindo três tipos de crescimento (determinado, indeterminado e semideterminado), hastes e vagens na coloração cinza ao amarronzado (MATSUO *et al.*, 2015).

Algumas das variedades de soja foram introduzidas na Bahia por um indivíduo chamado Gustavo D'utra no ano de 1882, posteriormente foram realizados os registros de diversos testes da cultura em vários estados, sendo fundamental para o estabelecimento da soja no Brasil (BONATO *et al.*, 1987).

O Brasil hoje é o maior produtor e exportador de soja do mundo (MONTEIRO *et al.*, 2021). Segundo os dados da Companhia Nacional de abastecimento (CONAB) a produção da tem volume de 124.047,8 mil toneladas em mais de 40 mil hectares que foram plantados na

safrinha 21/22. A Companhia cita Goiás com um acréscimo de 3,5% na área cultivada, com 17,2 mil hectares que levaram a produção de 61.332,1 mil toneladas de grãos, o que representa um aumento de 1% na produção, levando em consideração o ano anterior (CONAB, 2022).

A partir da década de 60 a soja entrou para o quadro de importância econômica no Brasil, a oleaginosa foi conquistando mercado até chegar no ponto de uma das maiores *commodities* comercializadas pelo Brasil. Por outro lado, a produção leva a altos custos ao produtor rural e ao país, principalmente com gastos com insumos. Desde a identificação da ferrugem asiática, os fungicidas representam alto investimento destinado ao controle de fungos na oleaginosa (ITO, 2013).

Para o êxito na produtividade da soja é necessário se levar em considerações dois pilares, os fatores ambientais e os genéticos. Quando citamos os fatores ambientais é importante relatar que os mais relevantes são a incidência solar, temperatura e condições do solo. Os aspectos genéticos podem determinar a adaptação da planta ao ambiente, a sua resistência a fatores externos e o seu vigor (SANTOS *et al.*, 2018).

O cenário brasileiro em relação a doenças no Brasil vem se alterando anualmente, apresentando aumento da severidade de algumas doenças, levando em consideração, tanto patógenos que atacam a parte aérea quanto fungos que pertencem ao solo (ITO, 2013).

O controle das doenças, tanto da soja quanto de outras culturas, depende da forma correta da realização o manejo, necessitando da inclusão do controle químico quando necessário, de forma correta e no momento certo (ITO, 2013).

A planta de soja pode ser exposta a condições de clima desfavoráveis em seu desenvolvimento, pode ocorrer o ataque significativo de patógenos de origem fúngica, bacteriana, virais além de nematoides. As doenças que esses organismos geram, podem afetar a qualidade e a quantidade dos grãos ou das sementes da soja (ATHOW e LAVIOLETTE, 1973).

O fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* é citada, por ITO (2013), como um dos principais fungos de sementes de soja. Os principais fungos são: *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Cercospora kikuchii*, *Cercospora sojina*, *Cladosporium* spp., *Colletotrichum truncatum*, *Corynespora cassiicola*, *Fusarium* spp., *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *Macrophomina phaseolina*, *Penicillium* spp., *Peronospora manshurica*, *Phialophora gregata*, *Phomopsis* spp., *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus* spp., *Sclerotinia sclerotiorum* e *Athelia rolfsii* (ITO, 2013).

No geral, quase todas as doenças da cultura da soja podem apresentar capacidade de serem transmitidas ou importadas pelas sementes, esse fator deve ser levado em consideração

ao se manejar as áreas. Os patógenos podem infectar as sementes de soja no momento da sua formação, no próprio campo, na colheita, durante o transporte e até durante o processo de beneficiamento e armazenamento. A precipitação pode influenciar, no período da colheita, a infecção das sementes por patógenos além de garantir sementes e grãos de baixa qualidade vinculado ao carregamento e distribuição de patógenos inviáveis nas áreas de produção (ITO, 2013).

### **O Patógeno – *Macrophomina phaseolina*:**

A denominação desse fungo foi caracterizada por Goidanish (1947) após ter realizado a revisão da taxonomia do gênero *Macrophomina* sp. que é constituído por apenas uma espécie: *Macrophomia phaseolina* (Tassi) Goid. Porém algumas diferenças morfológicas foram descritas por Pearson *et al.* (1987).

O fitopatógeno *M. phaseolina* é um fungo amplamente disseminado, polífago, que pode causar infecção em diversas espécies de plantas além de ser capaz de produzir estruturas de resistência, que levam a persistência dos microrganismos no solo por muito tempo (ITO, 2013).

O fungo se desenvolve com potencial em situações de estresse hídrico e temperatura elevada, de 28 C a 35° C, com severidade observada em solos compactados. Em situações de baixa temperatura não é observada a manifestação do fungo (ITO, 2013).

O fitopatógeno *M. phaseolina* (Tassi) é uma espécie que possui ampla gama de hospedeiros e possui capacidade de patogenicidade em mais de 500 espécies de plantas e em mais de 100 famílias botânicas, incluindo as principais plantas cultivadas (ALY *et al.*, 2007).

Quando o solo está contaminado pelo fungo e ocorre a semeadura de sementes que não apresentam tolerância ou quando são semeadas com o patógeno em sua estrutura, sintomas como “damping-off” em pré ou pós emergência podem ocorrer reduzindo a quantidade de plantas na área (WENDLAND *et al.*, 2016). Além de apresentar a possibilidade de transmissão de *M. phaseolina* para as plantas através do material infectado, sementes infectadas também representam uma grande via de transmissão do patógeno em qualquer área (WENDLAND *et al.*, 2016). Esse tópico demonstra a importância da sanidade das sementes plantadas, evitando a disseminação e a inoculação do patógeno.

Quando se encontra em altas temperaturas (30-35 ° C) e umidade baixa (menores que 60%) o fungo pode causar perdas relevantes de rendimento na soja e em outras culturas

resultando em perdas a produtividade, que gera perdas aos produtores. Existem relatos de 100% de perdas em cultivares de amendoim, isso quando a doença surgiu na pré-emergência da cultura (KAUR *et al.*, 2012).

O agente etiológico é caracterizado por apresentar hifas hialinas que apresentam paredes finas, além de serem hifas marrom-claras ou marrom-escuras com septos. As hifas principais são, normalmente, formadas em ângulo reto da origem e apresentando constrição. Os microescleródios apresentam uma massa compacta de micélio fúngico, endurecido e detendo formas arredondadas, esféricas, ovais ou oblongos. Mostrando-se com cor castanho claro na fase juvenil tornando-se escurecidos nas fases de envelhecimento. Raramente, em condições naturais, são observadas a presença de picnídios, mas quando aparecem eles são maiores que os microescleródios com tonalidade de espectro que pode variar do marrom ao preto, ásperos, globosos ou irregulares, bicudos e estiolado (LAKHRAM *et al.*, 2018).

O agente causal da podridão negra das raízes, o fungo *M. phaseolina* (Tassi) Goid é polífago e cosmopolita que apresenta capacidade de infectar as raízes, caules, folhas e vagens de várias espécies de plantas, afetando culturas que apresentam importância econômica (SINCLAIR e BACKMAN, 1989). A soja é afetada, e outras culturas como: feijão, sorgo, milho, algodão, feijão-caupi, pinus, citrus, café, plantas medicinais e plantas daninhas também sofrem infecção (GUPTA *et al.*, 2012).

O fungo se caracteriza por produzir microescleródios, que são estruturas de resistência que são formadas através da compactação de hifas que apresentam coloração escura devido a presença de melanina que é bastante abundante nos tecidos radiculares que estão infectados conferindo um aspecto encarvoado ou cinza às raízes que foram infectadas. Essas estruturas permitem a sobrevivência do fungo no solo e constituem a principal fonte de inoculação primária da doença (BOARETTO *et al.*, 2012).

Com relação ao fungo *M. phaseolina*, sabe-se que o referido patógeno entra no tecido do hospedeiro dissolvendo a parede da célula por meio da secreção de toxinas ou enzimas. (Medeiros *et al.*, 2015).

O fungo tem capacidade de se manter vivo nas sementes, nos restos culturais e no solo. Os microescleródios podem sobreviver por muitos anos no solo. Como controle é recomendado a utilização de sementes saudáveis. Alguns autores citam a rotação de culturas, porém ela pode não ser muito eficiente já que o fungo tem muitas plantas hospedeiras. As estruturas de resistência que já foram citadas acima, podem sobreviver no solo por vários anos (ITO, 2013).

A doença causada por esse fungo aparece em reboleiras de variados tamanhos. Os autores Mihail e Alcorn (1987) consideraram que a *Macrophomina phaseolina* infecta as plantas e geram reboleiras próximas e isso significa que o inóculo é mais concentrado e menos disperso. Essa característica pode ser interessante e pode ajudar no manejo da doença, já que essa concentração pode ser controlada com algum manejo direcionado ao local.

#### **À doença – podridão carvão ou negra das raízes:**

A podridão negra da raiz, também é conhecida como podridão cinzenta da raiz ou podridão de carvão, se trata de uma doença do sistema radicular que ocorre de forma generalizada em todos os locais do mundo (ISHIKAWA *et al.*, 2018).

A podridão carvão que tem agente causal o fungo *Macrophomina phaseolina* é considerada como uma das principais doenças da soja, podendo ocasionar danos e podridões no sistema radicular e no caule da soja, é possível afirmar que sua ocorrência vem aumentando a cada ciclo de safra devido as utilizações intensas da cultura (CRUCIOL e COSTA, 2018).

Quando ocorre a inoculação, os sintomas são o apodrecimento radicular, murcha foliar e fechamento de ramos, isso ocorre principalmente em períodos quentes e secos, os resultados desse ataque é a maturação antecipada e a formação incompleta dos grãos, gerando perdas que podem ser consideráveis (MENGISTU *et al.*, 2015).

A infecção ocorre nas raízes ocorre na fase de plântula, onde os apelidos secundários manifestam-se nas fases reprodutivas da soja. As plantas infectadas antes do aparecimento do primeiro trifólio apresentam estatura menor em relação as normais e demonstram uma perda de vigor de forma rápida e anormal. Em estádios mais avançados da doença, os folíolos ficam amarelos, murchos, pardos e as vezes retidos nos pecíolos (BOARETTO *et al.*, 2012).

O fungo raramente ocorre separado de outros fungos que causam podridões radiculares na soja, e isso é citado como a explicação para a dificuldade na quantificação dos danos que a infecção pode causar (BOARETTO *et al.*, 2012).

É citada a redução de rendimento dos grãos de 30 a 50% nas lavouras de soja em estados dos Estados Unidos da América (YANG e NAVI, 2005). Quando as plantas estão em fase de maturação juntamente com estresse hídrico juntamente com altas temperaturas, levam a elevação dos danos causados pelo microrganismo (BOARETTO *et al.*, 2012).

Os sintomas característicos são as podridões das hastes acima do solo e das raízes. Com o desenvolvimento da doença são demonstradas a inicialização das estruturas de formação do fungo na haste e nas estruturas de resistência. Pode-se dizer que são os microescleródios que

dão a coloração cinza na haste. O sintoma secundário é a formação de necrose, que aparece entre as nervuras das folhas, sintoma que tem nome comum de folha carijó. Em situações críticas, com alta severidade, pode ocorrer a desfolha antecipada além da má formação das vagens e até a decadência e perda da planta (ITO, 2013).

O uso de cultivares resistentes seria a principal forma de controle para essa doença, porém não existe o relato de cultivares resistentes (GUPTA *et al.*, 2012). Existe a observação de variabilidade genética entre isolados brasileiros do fungo o que leva a dificuldade da obtenção da resistência em relação a infecção nas cultivares brasileiras (ALMEIDA *et al.*, 2003). Porém existe a ocorrência de variedades com menor sensibilidade ao patógeno vem sendo citada em alguns estudos (MENGISTU *et al.*, 2011; MENGISTU *et al.*, 2013).

O desenvolvimento de materiais com resistência a fungos de plantas exige o uso de técnicas que tenham fundamentação para a avaliação do patógeno e da seleção. A maior parte dos estudos que fazem a avaliação do germoplasma da soja para a averiguação da resistência ao fungo o fazem ao campo, infestando a planta por inoculação artificial ou áreas que tem histórico da doença. Segundo o autor, os experimentos podem gerar resultados com pouca confiança, já que a campo as condições podem variar. O autor indica, para evitar essa variação, ensaios em condições ideais, isso em casas de vegetação ou câmaras de crescimento com padronização daquilo que de alguma forma, possa variar. As condições técnicas e ambientais devem ser padronizadas para manter a qualidade do estudo (ISHIKAWA *et al.*, 2018).

Wrather *et al.* (2008) afirma que existe diferença de rendimento em relação quantidade de pluviosidade que ocorre no local que haverá a infecção. Foi feito um estudo, no qual, foram avaliados genótipos sensíveis e tolerantes a seca nos anos de 2003 a 2005 e houve a observação de genótipos, tolerantes a seca, apresentavam mais resistentes a colonização da *M. phaseolina*, apesar do mesmo não ter ocorrido com todos os materiais tolerantes ao estresse hídrico.

A doença ocorre de forma generalizada em lavouras sobre condições de estresse hídrico. Dados do ano de 2006 mostram perdas de 2 milhões de t de grãos que são atribuídos a doença em questão, esses dados levam em consideração a Argentina, Brasil e os EUA, demonstrando as possíveis perdas geradas pelo patógeno (HARTMAN, 2015).

O fitopatógenos *Macrophomina* sp. (Botryosphaeriaceae) é um fungo fitopatogênicos de solo que causa apodrecimento de colo, raiz e sementes de mais de 800 espécies de plantas hospedeiras no mundo.

Infectando *Trianthema portulacastrum* e *Boerhavia diffusa* na produção de melão e melancia no Nordeste Brasileiro foi identificado duas espécies uma *M. phaseolina* e *M. pseudophaseolina*.

As hospedeiras economicamente importantes são representadas por soja [*Glycine max* (L) Merrill], melão (*Cucumis melo* L.), melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai], feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e algodão (*Gossypium herbaceum* L.) (SALES JÚNIOR *et al.*, 2020; LODHA; MAWAR, 2020; FARR e ROSSMAN, 2022). Este fitopatógenos pode causar diferentes doenças: podridão carvão, podridão cinzenta do caule, podridão radicular, tombamento e danos as sementes. A capacidade de sobrevivência através dos microesclerócios em ambientes tropicais permite uma maior frequência, longevidade, e dificuldade de manejo nos campos produtores (DHINGRA; SINCLAIR, 1978).

Por muito tempo, considerou-se que existia apenas uma espécie de *Macrophomina* (*M. phaseolina*), porém, estudos filogenéticos, realizados na última década, mostraram a existência de alta variabilidade genética no gênero *Macrophomina* (ZHAO *et al.*, 2019). Consequentemente, quatro novas espécies de *Macrophomina* foram recentemente descritas: *M. pseudophaseolina* Crous, Sarr e Ndiaye encontradas em cultivos de *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench., *Arachis hypogaea* L., *Hibiscus sabdariffa* L. e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. no Senegal (SARR *et al.*, 2014), *A. hypogaea*, *Gossypium hirsutum* L., *Ricinus communis* L., *Jatropha curcas* L. (MACHADO *et al.*, 2019) e *Manihot esculenta* C. (BRITO *et al.*, 2019), e em plantas daninhas de *Boerhavia diffusa* L. e *Trianthema portulacastrum* L. no Brasil (NEGREIROS *et al.*, 2019); *M. euphorbiicola* A.R. Machado, D. J. Soares e O.L. Pereira em *R. communis* e *Jatropha gossypifolia* L. no Brasil (MACHADO *et al.*, 2019); *M. vaccinii* Y. Zhang *et al.* e L. Zhao em *Vaccinium* spp. na China (ZHAO *et al.*, 2019); e mais recentemente, *M. tecta* Vaghefi, B. Poudel & R.G. Shivas em *S. bicolor* na Austrália (POUDEL *et al.*, 2021).

O estudo dos componentes de adaptabilidade, amplamente utilizados para novas espécies de fungos, como sensibilidade à salinidade e fungicida, crescimento micelial em diferentes temperaturas e virulência, tem sido muito útil para avaliar a variabilidade da adaptabilidade de isolados em populações de fungos fitopatogênicos. Entretanto, como a adaptabilidade tem caráter relativo, ela deve ser estimada por meio da mensuração de caracteres que reduzam alguma vantagem adaptativa entre os indivíduos (CORREIA *et al.*, 2014).

A capacidade competitiva de populações de fungos podem ser inferidas indiretamente por meio desses componentes de adaptabilidade (ZHAN e McDONALD, 2013). Assim, os

dados de patogenicidade e adaptabilidade dos isolados podem influenciar diretamente nas medidas de manejo a serem adotadas no campo (MENGISTU *et al.*, 2018).

Até o momento, estudos sobre os componentes de adaptabilidade comparando os diferentes *Macrophomina* spp. atualmente no Brasil são escassos.

### **Controle químico: fluxapiraxade + piraclostrobina:**

Existem 19 produtos comerciais veiculando fluxapiraxade, e 36 produtos comerciais veiculando piraclostrobina, e 10 produtos comerciais incluindo a mistura fluxapiraxade+piraclostrobina entre outras moléculas (AGROFIT, 2023)

As doenças geradas por fungos de solo são consideradas de difícil controle, além disso, pode-se considerar que a não existência de materiais comerciais de soja que apresentam resistência aos patógenos que causam doenças na cultura (ITO, 2013).

A manifestação de doenças depende, em grande parte, das condições do clima e da capacidade de suscetibilidade das cultivares, levando isso em consideração os aspectos fitossanitários são considerados como um fator que limitam a obtenção de altos índices na produtividade (ALMEIDA, 2001).

Atualmente o controle químico é o método de controle de doenças de plantas que apresenta a medida de controle mais eficiente e economicamente viável para garantir grandes produções alinhado a qualidade do produto (AMORIM *et al.*, 2011).

Os trabalhos de pesquisa demonstram que o controle químico é uma ferramenta importante no manejo de doenças, salientando que esse controle deve ser adotado como uma medida complementar ao manejo das doenças (CAMPOS *et al.*, 2010).

A fungitoxidade de determinado fungicida caracteriza-se pela toxicidade de determinada substância presente em pequenas quantidades do patógeno. Sua função consiste na redução ou inibição do desenvolvimento do patógeno devido a sua capacidade de controle (EDGINGTON *et al.*, 1971). Vários são os critérios utilizados para definir a toxidez de uma molécula química, parâmetros como DE<sub>50</sub> ou IC<sub>50</sub> (dose efetiva), EC<sub>50</sub> (dose letal), CL<sub>50</sub> (concentração letal), CE<sub>50</sub> (concentração efetiva), ou CMI (concentração mínima inibitória), a qual inibe 50% dos desenvolvimentos dos micélios ou da germinação dos esporos (EDGINGTON *et al.*, 1971).

Pode-se afirmar que recentemente foi lançado um ingrediente ativo do grupo das carboxamidas, o fluxapiraxade, essa molécula é inibidora da Succinate dehydrogenase (SDHIs) e sua mistura com a Piraclostrobina tem mostrado eficiência no controle de algumas doenças fúngicas, como a septoriose em culturas variadas (FASSLER *et al.*, 2011).

A classificação dos fungicidas é baseada em sua natureza química e no modo de ação da molécula contra o fitopatógeno, podendo ser classificados como: protetores ou de contato, erradicantes e/ou sistêmicos (ZAMBOLIM *et al.*, 1995).

Quando se fala das estrobilurinas pode-se dizer que elas foram biossintetizadas através de um metabólito secundário produzido por, incrivelmente, um fungo denominado por *Strobilurus tenacellus*. A comercialização desse grupo começou em 1996 associada a triazóis (RODRIGUES, 2006). O grupo age através da inibição do transporte de elétrons no complexo 3 mitocondrial, impossibilitando a respiração dos fungos atrapalhando a formação de ATP dos fungos. Esse grupo tem um amplo espectro de ação, agindo sobre os ascomicetos, fungos anamórficos, alguns basidiomicetos além de alguns oomicetos (AMORIM *et al.*, 2011). O grupo possui ação preventiva, impossibilitando a germinação de esporos, com ação curativa e erradicante, impossibilitando o desenvolvimento dos microrganismos nos primeiros estádios logo depois da inoculação. O autor afirma que pode existir atividade entiesporulante dos ativos desse grupo (VENANCIO *et al.*, 1999). O ativo Piraclostrobina é pertencente a esse grupo químico.

O grupo químico das carboxamidas, foi um dos primeiros grupos químicos de ação sistêmica descoberto. As moléculas pioneiras desse grupo eram seletivas para doenças causadas por basidiomicetos e seu espectro de toxidez aos fungos incluía os carvões, cáries, ferrugens e *Rhizoctonia solani* (AMORIM *et al.*, 2011). Com a descoberta da fluxapiróxade o grupo das carboxamidas voltou a ser motivo de estudos. A ação das carboxamidas é parecida com a das estrobilurinas, elas também atuam na respiração mitocondrial dos microrganismos, a diferença ocorre no sítio de ação, ou seja, essas moléculas atuam no complexo 2 da cadeia de transporte de elétrons, que pode ser chamado de complexo succinato-desidrogenase. Essa inibição resulta no bloqueio da produção de ATP e formação de moléculas danosas a célula. O grupo tem uma alta toxidez para fungos, porém apresenta instabilidade considerável dentro dos microrganismos, sendo rapidamente oxidada e transformada em sulfóxido que não é tóxico aos fungos. (TERAMOTO *et al.*, 2012). O ativo fluxapiróxade é pertencente a esse grupo químico.

De acordo com a fabricante, o Orkestra® SC é um fungicida que apresenta em sua formulação um duplo mecanismo de ação, agindo através de dois ingredientes ativos, a fluxapiróxade, que age inibindo a enzima SDHI e a piraclostrobina, que inibe o transporte de elétrons mitocondriais do fungo impossibilitando a formação de ATP que é importante nos processos metabólicos dos organismos. O mesmo, apresenta excelente forma de proteção das plantas, já que atua inibindo a germinação dos esporos, do desenvolvimento e na penetração

dos tubos germinativos. Segundo a fabricante, de acordo com o fungo, o produto pode apresentar ação curativa e erradicante, já que um dos ativos é sistêmico (Orkestra<sup>®</sup> SC, 2020).

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado a partir de oito isolados do agente causal da podridão-carvão-da-soja. Os isolados foram obtidos a partir do colo de soja de Silvânia e Vianópolis. Cada isolado foi identificado com um código (coleção micológica de referência) para manutenção e armazenamento.

**Tabela 1.** Listagem de isolados de *Macrophomina phaseolina* obtidos a partir de soja tiguera, códigos e cidades coletadas.

Ord.	Isolados, hospedeiro, local de coleta
1	IF202, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO
2	IF254, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO
3	IF191, <i>M. phaseolina</i> , Vianópolis, GO
4	IF195, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO
5	IF249, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO
6	IF203, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO
7	IF273, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO
8	IF201, <i>Colletotrichum truncatum</i> , soja cultivada, Passo Fundo, RS

O isolamento a partir do tecido doente oriundo de soja tiguera, retirou-se fragmentos internos localizados na região do colo de plantas. Os fragmentos internos foram submetidos a assepsia superficial através do depósito e mergulho em uma solução de álcool [50%] por 1', hipoclorito de sódio (HClO) à 1' e por fim tríplice lavagem com água. Em seguida, coletou-se com pinça previamente flambada os fragmentos do tecido vegetal, e depositou-os sobre papel autoclavado para secagem dos fragmentos.

Esses fragmentos foram encaminhados para a câmara de fluxo para plaqueamento próximo a chama do bico Bunsen em placas contendo meio ágar água (AA). As placas foram vedadas, identificadas e permaneceram sob incubação por 48 horas a 25 °C. Os fragmentos de micélio que cresceram, foram coletados e depositados em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) para produção de cultura pura (axênica). Em posse de culturas puras os isolados foram

mantidos em matrizes de mesma idade para uso no experimento sob dosagens de fluxapirroxade+piraclostrobina dissolvidos no meio BDA.

O ingrediente ativo piraclostrobina + fluxapirroxade, que tem como nome comercial Orkestra®, e possui a concentração dos ingredientes ativos de 333+167 g L<sup>-1</sup> e ainda a sigla do mecanismo de ação foi QoI e SDHI.

A partir deste fungicida utilizando o meio de cultura BDA foi diluído as concentrações de 0,1 ; 1 ; 10 e 100 ppm ou µL/mL, além do controle negativo (sem difusão em BDA do fungicida). Cada dose do fungicida foi depositado em Erlenmeyers de 250 mL (solução estoque) que permaneceram no congelador. Durante o uso, descongelou-se a temperatura ambiente e realizou-se a transferência de três mL na solução estoque do fungicida diluído aos 500 mL do meio de cultivo BDA a temperatura de 50 °C. Foram depositados aproximadamente 20 mL por placa de Petri do meio BDA misturado as dosagens dos tratamentos.

Foram realizadas três repetições de cada dosagem, considerando os oito isolados (Tabela 1) e as cinco dosagens testadas, o experimento utilizou 120 placas ou unidades experimentais. Todo o experimento foi realizado em condições assépticas dentro da câmara de fluxo laminar.

A partir de culturas matrizes monospóricas de isolados de *M. phaseolina* oriundo de soja (Tab. 2) foi recortado discos de micélio de nove mm de diâmetro das placas matrizes e transferidos para o centro de três placas de Petri contendo os tratamentos ou dosagens. As placas foram devidamente vedadas com filmes plásticos de PVC, identificadas e incubadas em câmara de crescimento a condição de 27 °C.

As avaliações foram realizadas com mensuração do diâmetro da colônia (mm) com régua, em intervalos de 24 horas, durante uma semana. Assim foram obtidos os dados aos 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dias após a inoculação do disco (DAI) em diferentes concentrações dos fungicidas.

Partindo da integralização das medidas do diâmetro de colônia nos dias de avaliação, a variável independente X foi representada por dias (t, DAI) e Y o diâmetro da colônia (X). Considerando isso, 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) (SHANNER e FINNEY, 1977).

A partir da soma das medidas temporais dos dias (X) e do diâmetro de colônia (Y) (subtraído do diâmetro do disco de micélio na placa), foi possível a ACPCM, agregando numericamente, a curva para cada isolado através da fórmula:

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

Sendo que, n é o número de avaliações do diâmetro da colônia, Xi é igual ao diâmetro da colônia no i-ésimo tempo de avaliação (ti) (SHANNER e FINNEY 1977).

A taxa de crescimento micelial (TCM) foi calculada através da regressão linear sendo os DAI (valor de X) e Y os valores de diâmetro de colônia (mm), 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 EC50 entre 0-100 ppm, 100-800 classificados como intermediários, acima de 800 insensíveis a molécula testada.

A eficiência de controle capaz de inibir o crescimento micelial a 50 % (EC50) foi calculada a partir da regressão linear do logaritmo das dosagens da mistura do fungicida com as porcentagens de inibição. As três repetições serviram para cálculo EC50 (µL L<sup>-1</sup>) utilizando procedimento contido em script do R. representado por.

O Freedman teste constitui um teste não paramétrico utilizado para comparar três ou mais grupos dependentes quando avaliados por meio de uma variável qualitativa ordinal ou uma variável numérica quantitativa que não apresenta distribuição normal. O Shapiro teste é utilizado para avaliar a normalidade, quando as amostras forem menores que 30, que vai mostrar se os dados têm distribuição normal, comparando os dados com uma curva normal de distribuição e se a distribuição normal existe. O Bartlet teste compara as variâncias, usando a comparação de três ou mais grupos. O CV é uma medida de dispersão, usada para medir a variabilidade de um conjunto de dados, o cálculo é feito através da divisão do desvio-padrão pela média gerando um coeficiente de variação que representa as amostras. E a equação de Regressão Linear procura verificar se uma variável independente pode ter ligação ou não com o resultado final. E o teste “F” que é utilizado para a comparação de variância de duas populações.

A AACPCM e TCM dos isolados e das diferentes dosagens, a % de inibição do crescimento micelial aos 0,1 , 1 , 10 e 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~0,05. Dentro do programa, os valores passaram por testes (Shapiro teste; Bartlett

teste; Freedman teste; teste F; definição de Coeficiente de variação (CV) e geração da equação de regressão linear). Foi realizada a análise de variância das interações dos fatores, e quando rejeitou-se a hipótese de nulidade foi realizado teste de comparação de médias para identificação das diferenças das médias utilizando o programa livre “R”.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis respostas que se rejeitou ou não se rejeitou a hipótese de nulidade foram o diâmetro da colônia aos um, dois, três quatro, cinco, seis sete, DAI, AACPCM e TCM para testes paramétricos e diâmetro da colônia aos dois DAI utilizou teste não paramétrico (Tab. 2).

Ao primeiro e segundo dia houve diferença significativa do crescimento micelial entre os isolados de *M. phaseolina* oriundos de soja tiguera. Sendo que aos 3, 4, 5, 6 e 7 DAI, AACPCM e TCM não houve diferença significativa entre os isolados (Tab. 2).

No primeiro dia observou-se que os isolados IF 195, IF 249, IF 203, IF 201 e IF 273 apresentaram menores crescimentos miceliais na média de todas as dosagens do fungicida aplicado, diferindo estatisticamente dos demais (Tab. 2).

No segundo dia de avaliação notou-se que os isolados IF 254, IF 191 e IF 195 apresentaram o maior diâmetro da colônia nas médias das dosagens de fungicidas aplicadas, diferindo estatisticamente dos demais (Tab. 2).

A partir do terceiro dia até o final da avaliação os isolados não apresentaram diferença significativa de acordo com a variável resposta diâmetro da colônia. Por se tratar de um fitopatógenos do solo, a chegada e atuação dessa mistura de molécula sitio específica não permitiu a seleção e o comportamento diferencial do isolado (Tab. 2).

Ao analisar as médias da AACPCM e TCM que representa um resumo do progresso do crescimento micelial não houve diferença significativa entre os isolados (Tab. 2).

Os isolados IF 191 e IF 201 apresentaram as maiores EC 50 com medias de 24,57 e 26,41  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , respectivamente, ou seja, precisaram da maior quantidade de fungicidas para inibir o crescimento em 50% (Tab. 2).

Barros e Menezes (1986) testaram a eficiência de fungicidas no controle da *M. phaseolina* em sementes de feijão macassar utilizando concentrações benomil (Benlste 50 PM), tiabendazol (Tecto 60 PM), PCNB (Brassic.01 75% PM) e tiofanato metílico (Cycosin 70% PM<sup>®</sup>) controlaram completamente as colônias do fitopatógenos principalmente para as

concentrações promissoras de 50 a 100 ppm de benomil (MBC) e a concentração de 100 ppm de tiabendazol (DMI) e tiofanato metílico (MBC).

**Tabela 2.** Médias do diâmetro da colônia (mm) nas dosagens de fluxapiraxade+piraclostrobina, em diferentes dias após a inoculação (DAI), área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM), taxa de crescimento micelial ( TCM, mm dia<sup>-1</sup>) e concentração efetiva capaz de inibir o crescimento micelial à 50 % (EC50, µL mL<sup>-1</sup>) de diferentes isolados de *Macrophomina phaseolina*\*.

Isolados	Diâmetro da colônia (mm) em diferentes dias após a inoculação (DAI)							AACPCM	TCM (mm dia <sup>-1</sup> )	EC 50 (µL mL <sup>-1</sup> )
	1	2	3	4	5	6	7			
IF 202, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO	15,73 a	28,87 b	37,60 a	43,00 a	48,60 a	54,20 a	59,73 a	204,20 a	6,92 a	16,7400
IF 254, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO	15,33 a	32,67 a	36,33 a	40,73 a	43,40 a	50,40 a	55,67 a	196,97 a	5,84 a	5,7159
IF 191, <i>M. phaseolina</i> , Vianópolis, GO	15,07 a	31,33 a	36,33 a	42,07 a	46,40 a	51,87 a	61,27 a	201,93 a	6,78 a	24,5700
IF 195, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO	13,40 b	30,20 a	35,00 a	40,27 a	44,67 a	49,07 a	56,13 a	191,50 a	6,27 a	4,9500
IF 249, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO	12,73 b	19,87 d	34,53 a	40,80 a	45,13 a	50,73 a	56,47 a	182,70 a	7,27 a	9,8270
IF 203, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO	12,60 b	29,73 b	35,20 a	39,27 a	42,93 a	46,47 a	51,07 a	184,07 a	5,33 a	2,3950
IF 201, <i>Colletotrichum truncatum</i> , Passo Fundo, RS	11,60 b	27,73 c	33,07 a	39,93 a	40,67 a	52,00 a	60,00 a	188,90 a	7,19 a	26,4060
IF 273, <i>M. phaseolina</i> , Silvânia, GO	11,53 b	27,60 b	35,67 a	43,00 a	47,40 a	53,27 a	59,73 a	197,37 a	7,42 a	8,3169
Teste Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,9217**	0,7288**	0,9511**	0,9721*	0,9663**	0,9336**	0,9200**	0,9941**	0,9316**	nd
Teste Bartlett (Homogeneidade)	20,1290**	85,8830**	25,3460**	22,5590**	16,6670*	5,4122**	8,5724**	16,7170**	8,0299**	nd
Teste F	<b>4,3875**</b>	1,0326**	<b>0,6483**</b>	<b>0,3719**</b>	<b>0,9806**</b>	<b>0,5793**</b>	<b>0,7968**</b>	<b>0,6552**</b>	<b>0,9560**</b>	nd
Coefficiente de variação (%)	16,99	33,95	10,29	12,57	13,27	16,36	19,86	11,52	3,52	nd
Teste Friedman	20,3381**	<b>10,1068**</b>	4,0698**	0,933**	6,4925**	5,0776**	4,0150**	5,5333**	4,6667**	nd

\*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si ao teste Skot Knott P~0,05; coeficiente do teste de hipóteses paramétricos (Teste F) e não paramétricos (Teste Friedman em negrito correspondem ao teste empregado para as diferenças entre as médias.

A maior parte dos isolados foi empregado um teste paramétrico com exceção dos isolados IF 202 e IF 191, aos quais foram empregados testes paramétricos não paramétricos (Tab. 3).

O isolado IF 202 apresentou a maior e mesma médias do crescimento de colônia nas dosagens de 0, 0,1 e 1 ppm de fluxapiraxade+piraclostrobina, diferindo estatisticamente das demais dosagens. Este isolado foi classificado como sensibilidade intermediária com base na média de EC 50 (16,74 µL mL<sup>-1</sup>) (Tab. 3).

O isolado IF 254, IF 191, IF 195, IF 249, IF 203, IF 201 (*Colletotrichum truncatum*) e IF 273 apresentou a maior médias do crescimento de colônia na dosagem de 0 ppm de fluxapiraxade+piraclostrobina, diferindo estatisticamente das demais dosagens (Tab. 3).

As previsões de sensibilidade dos isolados podem ser obtidas pelas equações de regressão linear obtidas para coeficientes de determinação superiores a 80%.

**Tabela 3.** Médias dos diâmetros das colônias (mm) aos sete dias de avaliação e em suas respectivas concentrações de fluxapiroxade+ piraclostrobina, concentração efetiva capaz de inibir o crescimento micelial à 50 % (EC50,  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), equação de regressão linear e coeficientes de testes paramétricos e não paramétricos, e coeficiente de variação (CV) de diferentes isolados de *Macrophomina phaseolina*\*.

Ord.	Isolados	Equação de Regressão linear	EC50 ( $\mu\text{L mL}^{-1}$ )	Diâmetro da colônia (mm) aos 7 DAI					Teste Shapiro	Teste Bartlett	CV	Teste F	Teste Friedman
				0	0,1	1	10	100					
1	IF202, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$y=48,31-0,32427x$	16,7400	90,00 a	61,67 a	73,33 a	49,67 b	24,00 c	0,8531*	117,4500**	21,18	12,3250**	<b>12,000*</b>
2	IF254, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$y=47,05-0,352x$	5,7159	90,00 a	57,00 c	76,67 b	27,33 d	27,33 d	0,9363 <sup>ns</sup>	1,2290 <sup>ns</sup>	5,48	<b>259,3214**</b>	11,5932*
3	IF191, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Vianópolis, GO	$y=49,29-0,39x$	<b>24,5700</b>	90,00 a	60,67 b	81,67 a	47,67 bc	26,33 c	0,9162 <sup>ns</sup>	12,2140*	22,40	10,5300**	<b>10,6667*</b>
4	IF195, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$y=46,50-0,36x$	4,9500	90,00 a	68,33 b	63,33 b	34,00 c	25,00 c	0,9350 <sup>ns</sup>	5,0141 <sup>ns</sup>	10,40	<b>61,7330**</b>	11,4667*
5	IF249, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$y=42,73-0,25x$	9,8270	90,00 a	53,00 b	58,67 b	43,00 c	37,67 c	0,9756 <sup>ns</sup>	2,3825 <sup>ns</sup>	10,45	<b>36,0717**</b>	10,9333*
6	IF203, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$y=50,546-0,436x$	2,3950	90,00 a	68,33 b	64,33 b	17,33 c	15,33 c	0,9131 <sup>ns</sup>	10,7760*	12,20	<b>84,5623**</b>	11,4667*
7	IF201, <i>Colletotrichum truncatum</i> , Passo Fundo RS	$y=45,36-0,338x$	<b>26,4060</b>	90,00 a	50,67 b	81,67 a	51,33 b	26,33 c	0,9571 <sup>ns</sup>	2,2145 <sup>ns</sup>	8,27	<b>81,1434**</b>	11,3220*
8	IF273, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$y=48,56-0,397x$	8,3169	90,00 a	76,67 b	76,00 b	36,00 c	20,00 d	0,9417 <sup>ns</sup>	2,3864 <sup>ns</sup>	8,38	<b>107,9947*</b>	11,5932*

\*Médias seguidas de mesma letra na horizontal não diferem entre si ao teste Skot Knott  $P \sim 0,05$ ; Coeficiente do teste de hipóteses paramétricos (Teste F) e não paramétricos (Teste Friedman em negrito correspondem ao teste empregado para as diferenças entre as médias.

Rejeitou-se a hipótese de nulidade entre as dosagens de fluxapiroxade+trifloxistrobina para a variável resposta AACPCM. Empregou-se para todos os isolados o teste paramétrico F (Tab. 4).

Para todos os isolados as maiores médias de AACPCM ocorreram no crescimento sem a presença de dosagens do fungicida. Os menores crescimentos miceliais ocorreram na dosagem de 100 ppm, havendo redução de aproximadamente quatro três à vezes para todos os isolados de *Macrophomina phaseolina* avaliados (Tab. 4).

Através das equações de regressão linear é possível estimar a AACPCM em diferentes dosagens (Tab. 4).

**Tabela 4.** Médias da área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM) aos sete dias após a inoculação em suas respectivas concentrações de fluxapiroxade+trifloxistrobina, coeficientes dos testes estatísticos paramétricos e não paramétricos, equação de regressão linear e a concentração efetiva capaz de inibir o crescimento micelial à 50 % (EC50,  $\mu\text{L mL}^{-1}$ )\* de diferentes isolados de *Macrophomina phaseolina*.

Ord.	Isolados	Equação de Regressão linear	EC50 ( $\mu\text{L/mL}$ )	AACPCM aos 7 DAI					Teste Shapiro	Teste Bartlett	CV	Teste F	Teste Friedman
				0	0,1	1	10	100					
1	IF202, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$Y=71,14-1,60x$	16,7400	383,67 a	212,33 b	206,17 b	129,50 c	89,33 d	0,9438 <sup>ns</sup>	6,728 <sup>ns</sup>	7,90	<b>146,734**</b>	12,0000*
2	IF254, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$Y=57,07-1,80x$	5,7159	418,50 a	186,17 c	222,00 b	88,17 d	70,00 e	0,9437 <sup>ns</sup>	5,4443 <sup>ns</sup>	2,73	<b>1981,6127**</b>	12,0000*
3	IF191, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Vianópolis, GO	$Y=60,80-1,96x$	24,5700	419,50 a	172,83 c	246,50 b	110,17 d	60,67 e	0,9176 <sup>ns</sup>	14,2590**	4,80	<b>624,0385**</b>	12,0000*
4	IF195, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$Y=58,13-1,85x$	4,9500	414,33 a	192,50 b	190,83 b	100,67 c	59,17 d	0,9332 <sup>ns</sup>	10,0680*	7,90	<b>241,4737**</b>	11,46667*
5	IF249, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$Y=59,34-1,26x$	9,8270	369,00 a	158,33 b	173,00 b	120,33 c	92,83 c	0,9418 <sup>ns</sup>	7,5985 <sup>ns</sup>	11,30	<b>82,7895**</b>	12,0000*
6	IF203, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$Y=53,08-1,91x$	2,3950	415,50 a	208,00 b	185,50 c	61,17 d	50,17 d	0,9419 <sup>ns</sup>	5,0575 <sup>ns</sup>	4,20	<b>1082,4073**</b>	12,0000*
7	IF201, <i>Colletotrichum truncatum</i> , Passo Fundo RS	$Y=55,69-1,71x$	26,4060	415,67 a	147,50 c	200,33 b	115,83 d	65,17 e	0,9443 <sup>ns</sup>	5,7101 <sup>ns</sup>	4,36	<b>815,1554**</b>	12,0000*
8	IF273, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvéria, GO	$Y=61,90-1,98x$	8,3169	406,00 a	215,50 b	217,50 b	91,67 c	56,17 d	0,9727 <sup>ns</sup>	5,1208 <sup>ns</sup>	5,69	<b>447,9317**</b>	11,4667*

\* Médias seguidas de mesma letra na horizontal não diferem entre si ao teste Skott Knott  $P \sim 0,05$ ; coeficiente do teste de hipóteses paramétricos (Teste F) e não paramétricos (Teste Friedman em negrito correspondem ao teste empregado para as diferenças entre as médias.

Rejeitou-se a hipótese de nulidade para as diferenças das médias de TCM entre as dosagens de fungicidas para todos os isolados, no entanto, foram aplicados testes paramétricos IF 254, IF 195, IF 201 (*Colletotrichum truncatum*) e IF 273. Foram aplicados testes não paramétricos para os isolados IF 202, IF 191, IF 249 e IF 203 (Tab. 5).

Através das equações de regressão linear é possível estimar a TCM em diferentes dosagens (Tab. 5).

Esperou-se que a maior média de TCM ocorresse na testemunha devido a inexistência do inibidor de crescimento representado pelo fungicida. No entanto, foi observado para os isolados IF 254, IF 191, IF 195, IF 249 e IF 203 nas concentrações de 0,1 e 1 ppm do fungicidas maiores TCM. Possivelmente esse comportamento indica a presença de genes de resistência que possibilitem uma atividade fisiológica maior em substratos contendo a mistura fluxapirroxade+trifloxistrobina (Tab. 5).

Santos *et al.* (2006) mencionaram que as doses de 0.25 e 0.5 foram 1 e 2 vezes maiores que a dose comercial recomendada de tiofanato metílico representando 490 e 980 ppm do i.a. para controle de *D. bryoniae*, sendo reportado o crescimento micelial em todas as concentrações testadas.

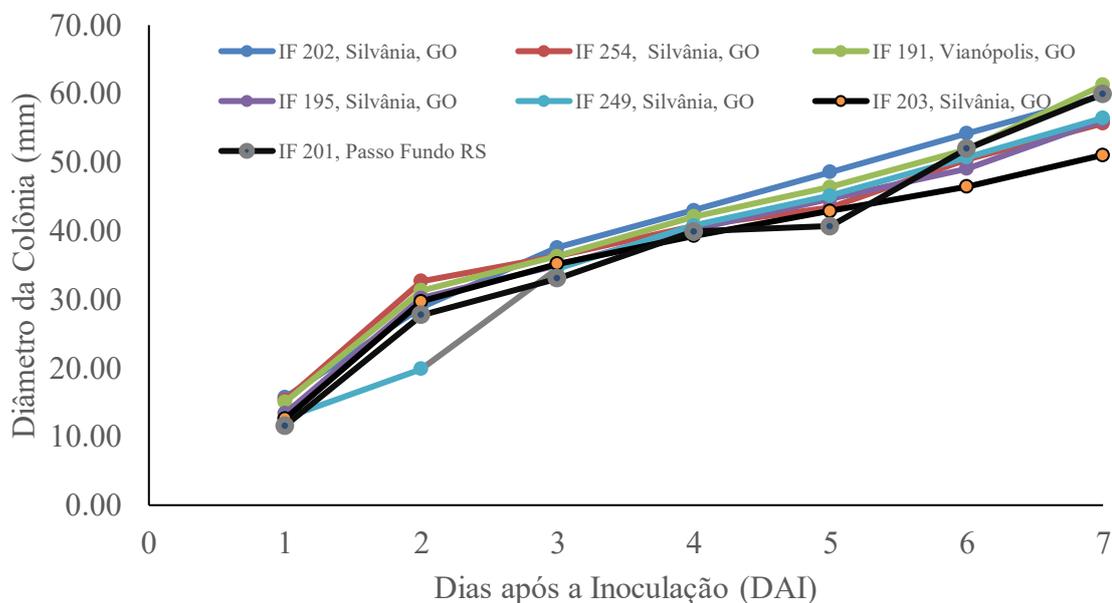
**Tabela 5.** Médias de taxa de crescimento micelial (TCM em mm dia<sup>-1</sup>) relacionado a concentração dos ativos, a EC50, testes estatísticos paramétricos e a equação de regressão linear\*.

Isolados	Equação de regressão linear	EC50 (αL mL <sup>-1</sup> )	TCM (mm dia <sup>-1</sup> )					Teste Shapiro	Teste Bartlett	CV	Teste F	Teste Friedman
			0	0,1	1	10	100					
IF202, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvânia, GO	Y=109,32-0,06x	16,7400	9,46 a	7,25 ab	9,46 a	6,01 ab	1,92 b	0,9228**	6,0373**	30,60	6,9353*	<b>8,26667*</b>
IF254, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvânia, GO	Y=74,11-0,04x	5,7159	6,75 b	7,10 b	9,68 a	2,69 c	2,99 c	0,9397**	1,0499**	11,10	<b>62,068**</b>	10,93333*
IF191, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Vianópolis, GO	Y=93,14-0,05x	24,5700	6,54 b	7,24 b	11,49 a	6,26 b	2,36 c	0,8709*	11,8310*	22,14	14,0829**	<b>9,8667*</b>
IF195, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvânia, GO	Y=102,51-0,05x	4,9500	7,40 a	9,25 a	8,07 a	4,54 b	2,10 c	0,9465**	6,5744**	17,60	<b>20,7444**</b>	10,4000*
IF249, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvânia, GO	Y=107,08-0,03x	9,8270	10,60 a	6,69 b	8,80 a	5,55 c	4,71 d	0,9027**	9,2504**	20,20	8,0354**	<b>11,4667*</b>
IF203, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvânia, GO	Y=64,80-0,06x	2,3950	7,39 b	9,63 a	8,39 ab	1,54 c	0,82 c	0,9479**	6,4195**	22,90	30,8769**	<b>10,8276*</b>
IF201, <i>Colletotrichum truncatum</i> , Passo Fundo RS	Y=94,88-0,05x	26,4060	7,36 b	6,60 b	12,02 a	7,35 b	2,63 c	0,9479**	6,5437**	14,40	<b>31,2167**</b>	9,8667*
IF273, <i>M. phaseolina</i> , Soja Tiguera Silvânia, GO	Y=83,94-0,08x	8,3169	8,14 b	11,63 a	11,04 a	4,69 c	1,58 d	0,9652**	9,4949*	14,20	<b>49,0677**</b>	11,4666*

\* \* Médias seguidas de mesma letra na horizontal não diferem entre si ao teste Skot Knott P~0,05; coeficiente do teste de hipóteses paramétricos (Teste F) e não paramétricos (Teste Friedman em negrito correspondem ao teste empregado para as diferenças entre as médias.

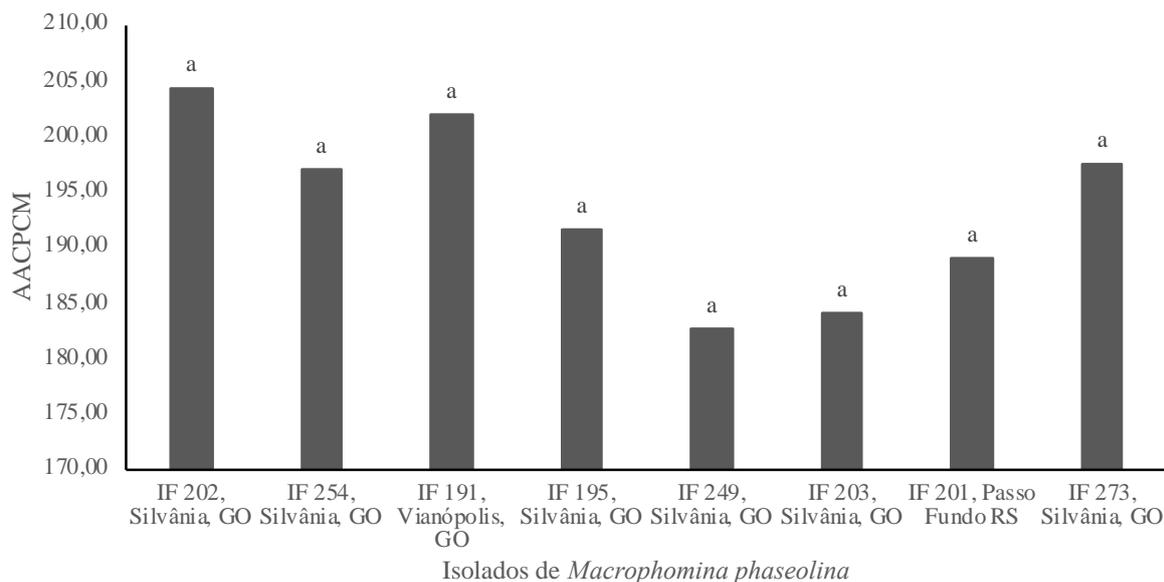
O progresso do crescimento micelial, não houve variação nos diferentes dias avaliados quando obtemos as médias de crescimento em todas as dosagens de fluxapirroxade+piraclostrobina (Fig. 1). O crescimento de todos os isolados de *Macrophomina phaseolina* obedeceu uma crescente linear, sendo que aos sete DAI não ocupou toda a área experimental de 90 mm chegando a amplitude de atividade fisiológica de 50-60 mm (Fig. 1).

A variabilidade do crescimento fisiológico representado por curvas de crescimento micelial de isolados submetidos a dosagens de moléculas químicas pode ser observada devido diferenças gritantes de sensibilidade a molécula (OLMERT & KENNETH, 1974). TODOROVA *et al.* (1998) detectou diferentes respostas de *Beauveria bassiana* na presença de diferentes moléculas químicas.



**Figura 1.** Médias do diâmetro da colônia (mm) em diferentes dias após a inoculação (DAI) de 3 diferentes isolados de *Macrophomina phaseolina* avaliados.

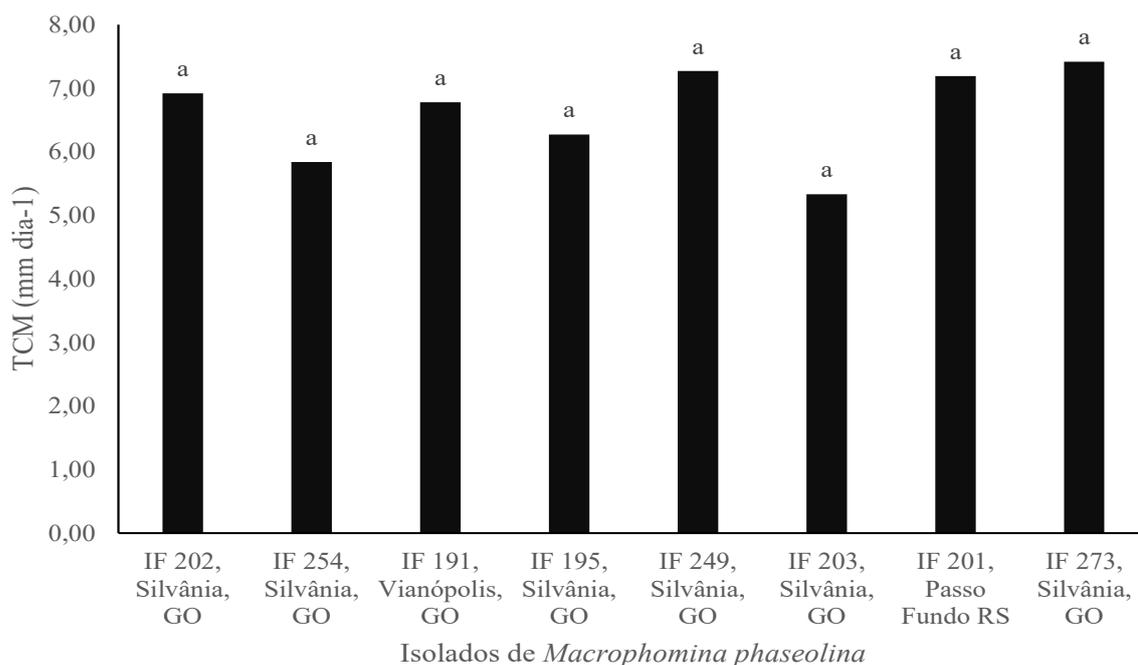
A AACPCM representa um resumo da atividade fisiológica dos isolados submetidos ao estresse de dosagens de fungicidas. Estatisticamente os isolados de *Macrophomina phaseolina* avaliados, não foram diferenciados estatisticamente (Fig. 2).



**Figura 2.** Médias da Área Abaixo da Curva de Progresso de Crescimento Micelial (AACPCM) dos isolados de *Macrophomina phaseolina* submetidos a diferentes dosagens de fluxapiraxade+piraclostrobina.

A TCM representa uma variável que explica qual o progresso em mm dia<sup>-1</sup> que cada isolado de *M. phaseolina* expressou. Foi observado que todos os isolados não apresentaram diferenças significativas do progresso do crescimento micelial apresentando crescimentos variando de 5,5-7,0 mm dia<sup>-1</sup>.

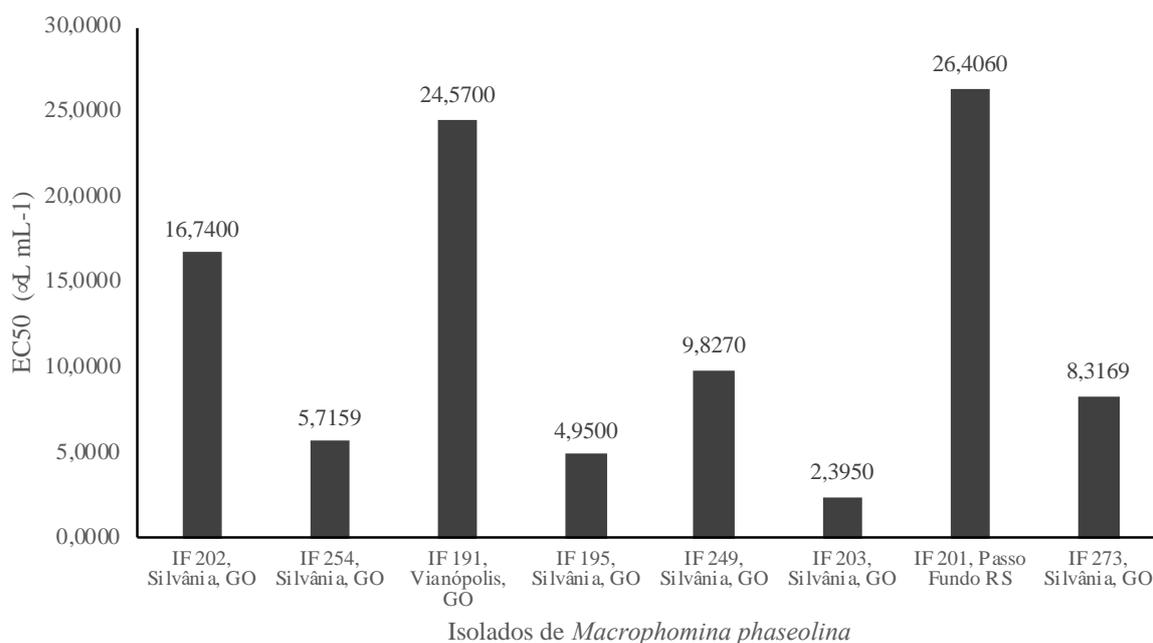
Tonin *et al.* (2013) realizaram tratamentos para testar sensibilidade de isolados de *M. phaseolina*, na qual concluíram que eles mostraram insensibilidade aos ingredientes ativos fluquinconazol, metalaxil, tirame e tolilfluanida.



**Figura 3.** Médias taxa de crescimento micelial (mm dia<sup>-1</sup>, TCM) de diferentes isolados de *Macrophomina phaseolina* avaliados.

A EC50 indica a concentração efetiva capaz de inibir o crescimento micelial em 50%, sendo uma poderosa informação para classificação dos isolados quanto a sua sensibilidade (Fig. 4).

A partir das diferenças do EC 50, os isolados IF 191 e IF 201 foram classificados como insensíveis apresentando concentrações de 24,57 e 26,41  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , respectivamente concentrações capazes de inibir o crescimento à 50%. O isolado IF 202 foi classificado como intermediário, apresentado EC 50 de 16,74  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . Os demais isolados de *M. phaseolina* foram classificados como sensíveis (Fig. 4). Torrez-Calzada *et al.* (2015) se fosse utilizado seu critério para isolados de *M. phaseolina* todos os isolados seriam classificados como sensíveis a mistura fluxapiraxade+piraclostrobina.



**Figura 4.** Médias da concentração efetiva capaz de inibir o crescimento micelial a 50% (EC<sub>50</sub>, µL mL<sup>-1</sup>) de diferentes isolados de *Macrophomina phaseolina* avaliados.

Devido alterações genéticas, um fungo pode apresentar ou não sensibilidade a uma determinada molécula regulada por um conjunto de alelos. Quando o fungo apresenta sensibilidade a fungitoxidade é explicada pela inexistência de genes de resistência ao composto químico, logo, quando o fungicida não apresenta toxicidade, é afirmado que o fungo é insensível (REIS *et al.*, 2007).

Nem todo fitopatógeno fúngico vai apresentar sensibilidade a fungicidas, com isso, nem todos os produtos químicos num processo de seleção de cepas resistentes podem apresentar toxicidade (SHARVELLE, 1961; TORGESON, 1967; EDGINGTO *et al.*, 1971; REIS *et al.*, 2010).

## CONCLUSÕES

A maioria dos isolados testados de *M. phaseolina* apresentaram sensibilidade a piraclostrobina + fluxapiraxade com exceção dos isolados IF 191 e IF 201.

Os isolados cresceram diferenciadamente nas dosagens de fungicidas aplicadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALIYEV, J. A. Fotossíntese, fotorrespiração e produtividade de genótipos de trigo e soja. Anais da ANAS (Ciências Biológicas), v. 65, n. 5/6, pág. 7-48, 2010.

ALMEIDA, A. M. R.; ABDELNOOR, R. V.; ARIAS, C. A. A.; CARVALHO V. P.; FILHO, D. S. J.; MARIN, S. R. R.; BENATO, L. C.; PINTO, M. C.; CARVALHO C. G. P. Genotypic diversity among Brazilian isolates of *Macrophomina phaseolina* revealed by RAPD. Fitopatologia Brasileira, v. 28, p. 279-285, 2003.

ALMEIDA, A.M.R. Observação de resistência parcial a *Septoria glycines* em soja. Fitopatologia Brasileira, v. 26, p. 214-216, 2001.

ALY, A. A.; ABDEL-SATAR, M. A.; OMAR, M. R. ABD-ELSALAM, K. A. Differential antagonism of *Trichoderma* sp. against *Macrophomina phaseolina*. Journal of Plant Protection Research, v. 47, n. 2, p. 91-102, 2007.

AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. 704 p.

AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. v. 1, p. 343-365.

ATHOW, K.L.; LAVIOLETTE, F.A. Efeitos da proteção da vagem na germinação de sementes de soja e na infecção por *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* e outros microrganismos. Fitopatologia, v. 63, n. 8, p. 1021-3, 1973.

AZEVEDO, E.; BARATA, M. Diversidade no reino fungi e aplicações à Indústria. Revista de Ciência Elementar, v. 6, n. 4, 2018.

BARROS, R. Doenças da cultura da soja. Tecnologia e produção de soja e milho, v. 2009, p. 109-122, 2008.

BARROS, S.T. de; MENEZES, M. Eficiência de fungicidas no controle de *Macrophomina phaseolina* Tassi, em sementes de feijão macassar, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Cultivar sempre-verde. 1986.

BOARETTO, C.; DANELLI, A.L.D. Podridão cinzenta da raiz. Reis, EM; Casa, RT Doenças da soja: etiologia, sintomatologia, diagnose e manejo integrado. Passo Fundo: Berthier, p. 281-296, 2012.

BONATO, E. R.; BONATO, A. L. V. A soja no Brasil: história e estatística. 1987.

CAMPOS, H. D.; SILVA, L. H. C. P.; MEYER, M. C.; SILVA, J. R. C.; NUNES JUNIOR, J. Mofa-branco na cultura da soja e os desafios da pesquisa no Brasil. Tropical Plant Pathology, v. 35, p. 100-101, 2010.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da

Safra Brasileira de Grãos. Disponível em: file:///C:/Users/luzia/Downloads/Ebook\_BoletimZdeZSafrasZ-Z7oZlevantamento-compactado%20(1).pdf. Acesso em: 8 de novembro de 2022.

CORREIA, K. C.; SILVA, E. K. C.; CÂMARA, M. P. S.; JÚNIOR, R. S.; MIZUBUTI, E. S. G.; ARMENGOL, J.; JIMÉNEZ, J. C.; MICHEREFF, S. J. Fitness components of *Monosporascus cannonballus* isolates from northeastern Brazilian melon fields. *Tropical Plant Pathology*, 39: 217-223, 2014.

CRUCIOL, G. C. D.; COSTA, M. L. N. Influência de metodologias de inoculação de *Macrophomina phaseolina* no desempenho de cultivares de soja. *Summa Phytopathologica*, v. 44, p. 32-37, 2018.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. Biology and pathology of *Macrophomina phaseolina*. Viçosa MG: Universidade Federal de Viçosa, 1978. 166 p.

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. In: *Phytopathology*, v. 61, n. 1, p. 42, 1971.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Fungal Databases. Disponível em: <<https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

FASSLER, N.; WALKER, S.; BARNES, J. A new broad-spectrum fungicide for use in row crops. In: *Phytopathology*, v. 101, p. S51, 2011.

GUPTA, G. K.; SHARMA, S. K.; RAMTEKE, R. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Journal of Phytopathology*, v. 160, n. 4, p. 167-180, 2012.

HARTMAN, G.L.; RUPE, J.C.; SIKORA, E.J.; DOMIR, L.L.; DAVIS, J.A.; STEFFEY, K.L. Compendium of soybean diseases and pests. St. Paul, MN: American Phytopathological Society, ISBN: 978-0-89054-475-4, v. 5, 2015.

ISHIKAWA, M. S.; RIBEIRO, N. R.; OLIVEIRA, E. C.; ALMEIDA, A. A.; BALBI-PEÑA, M. I. Seleção de cultivares de soja para resistência à podridão negra da raiz (*Macrophomina phaseolina*). *Summa phytopathologica*, v. 44, p. 38-44, 2018.

ITO, M. F. Principais doenças da cultura da soja e manejo integrado. *Nucleus*, v. 3, n. 3, p. 83-101, 2013.

KAUR, S.; DHILLON, G. S.; BRAR, S. K.; VALLAD, G. E.; CHAND, R.; CHAUHAN, V. B. Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic trends. *Critical Reviews in Microbiology*, v. 38, n. 2, p. 136-151, 2012.

LAKHRAN, L., AHIR, R. R., CHOUDHARY, M., CHOUDHARY, S. Isolation, purification, identification and pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid caused dry root rot of chickpea. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 7, 3314–3317. 2018.

LODHA, S.; MAWAR, R. Population dynamics of *Macrophomina phaseolina* in relation to disease management: A review. *Journal of Phytopathology*, 168: 1-17, 2020.

MACHADO, A. R.; PINHO, D. B.; SOARES, D. J.; GOMES, A. A. M.; PEREIRA, O. L. Bayesian analyses of five gene regions reveal a new phylogenetic species of *Macrophomina* associated with charcoal rot on oilseed crops in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 153: 89-100, 2019.

MATSUO, E.; SEDIYAMA, T.; CRUZ, C. D.; BROMMONSCHENKE, H.; FERREIRA, S. C.; FIALHO, G. S. Efficiency of artificial hybridization in soybean during the summer depending on temperature and relative humidity. *Bioscience Journal*, v. 31, n. 6, p. 1663-1670, 2015.

MEDEIROS, A.C.; MELO, D.R.M.; AMBRÓSIO, M.M.Q.; NUNES, G.H.S.; COSTA, J.M. Métodos de inoculação de *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina* em meloeiro (*Cucumis melo*). *Summa Phytopathologica*, v.41, n.4, p.281-286, 2015.

MENDGEN, K.; HAHN, M. G.; DEISING, H. Morfogênese e mecanismos de penetração de fungos fitopatogênicos. *Revista anual de fitopatologia*, v. 34, n. 1, p. 364-386, 1996.

MENGISTU, A.; ARRELLI, J. P.; BOND, J. P.; SHANNON, G. J.; WRANTHER, A. J.; RUPE, J. B.; CHEN, P.; LITTLE, C. R.; CANADAY, C. H.; NEWMAN, M. A. Evaluation of soybean genotypes for resistance to charcoal rot. *Plant Health Progress*, v. 12, n. 1, p. 6, 2011.

MENGISTU, A.; BOND, J.; NELSON, R.; RUPE, J.; SHANNON, G.; ARELLI, P.; WRANTHER, A. Identification of soybean accessions resistant to *Macrophomina phaseolina* by field screening and laboratory validation. *Plant Health Progress*, v. 14, n. 1, p. 25, 2013.

MENGISTU, A.; RAY, J. D.; SMITH, J. R.; ARELLI, P. R.; BALLALOU, N.; CHEN, P.; SHANNON, G.; BOYKIN, D. Effect of charcoal rot on selected putative drought tolerant soybean genotypes and yield. *Crop Protection*, 105: 90-101, 2018.

MENGISTU, A.; WRANTHER, A.; RUPE, J. C. Compendium of soybean diseases and pests. 5th ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 2015. p. 67-69.

MIHAIL, J. D.; ALCORN, S. M. Quantitative recovery of *Macrophomina phaseoline* sclerotia from soil. Plant Disease, 1982.

MONTEIRO, M.; BRISOLA, M.; LEITÃO, F.; SILVA, W. Limitations and problems in soy transport in Brazil. Informe Gepec, v. 25, n. 1, p. 261-283, 2021.

NICHOLSON, R. L.; EPSTEIN, L. Adesão de fungos à superfície da planta. In: O esporo de fungos e a iniciação de doenças em plantas e animais. Springer, Boston, MA, 1991. p. 3-23.

OLMERT, I.; KENNETH, R.G. Sensitivity of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, and *Verticillium* sp. to fungicides and insecticides. Environ. Entomol., v.3, p.33-39, 1974.

ORKESTRA® SC. Fungicida. Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA sob o nº 08813. BASF. São Paulo: BASF S.A. 2020. Bula do defensivo. p.427-433, 1998.

PEARSON, C. A. S.; LESLIE, J. F.; SCHWENK, F. W. Nitrogen source utilization by chlorate-resistant and chlorate-sensitive isolates of *Macrophomina phaseolina*. Transactions of the British Mycological Society, v. 88, n. 4, p. 497-502, 1987.

POUDEL, B.; SHIVAS, R. G.; ADORADA, D. L.; BARBETTI, M. J.; BITHEL, S. L.; KELLY, L. A.; SPARKS, N. M. A. H.; TAN, Y. P.; THOMAS, G.; LEUR, J. V.; VAGHEFI, N. Hidden diversity of *Macrophomina* associated with broadacre and horticultural crops in Australia. European Journal of Plant Pathology, 161: 1-23, 2021.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BIANCHIN, V. Controle de doenças de plantas pela rotação de culturas. Summa Phytopathologica, v. 37, p. 85-91, 2011.

REIS, E. M.; FORCELINI, C. A.; REIS, A. C. Manual de fungicidas: guia para o controle de doenças de plantas. Passo Fundo: UPF, 2007.

REIS, E. M.; REIS, A. C.; CARMONA, M. A. Manual de fungicidas: guia para o controle químico de doenças de plantas. Passo Fundo: UPF, 2010.

RHODEN, S. A.; LUCAS, A. P. C.; EVANGELISTA, C. L.; DE LIMA, F. S.; DE CARVALHO D. I.; NASCIMENTO, R. A.; PAMPHILE, J. A. Aspectos Físicos, Químicos e Genéticos na Interação Patógeno Planta Hospedeira. SaBios-Revista de Saúde e Biologia, v. 14, n. 1, p. 34-41, 2019.

RODRIGUES, M. A. T. Classificação de fungicidas de acordo com o mecanismo de ação proposto pelo FRAC. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas. 2006.

SALES JÚNIOR, R.; SILVA NETO, A. N. D.; NEGREIROS, A. M. P.; GOMES, T. R. R.; AMBRÓSIO, M. M. D. Q.; ARMENGOL, J.. Pathogenicity of *Macrophomina* species collected from weeds in cowpea. *Revista Caatinga*, 33: 395-401, 2020.

SANTOS, A. C.; OLIVEIRA, B. A.; GOMES, I. F.; GROFF, A. M. Fatores e técnicas de produção e sua influência na produtividade e qualidade da soja. XI Encontro de Engenharia de Produção Agroindustrial, p. 1-10, 2018.

SANTOS, G.R., CAFÉ-FILHO, A.C.; REIS, A. Resistência de *Didymella bryoniae* a fungicidas no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 31:476-482. 2006.

SHANNER, G., FINNEY, R. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*. 67:1051–1056. 1977.

SHARVELLE, E. G. The nature and uses of modern fungicides (A natureza e os usos dos fungicidas modernos). Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1961.

SINCLAIR, J. B.; BACKMAN, P. A. Compendium of soybean diseases. American Phytopathological Society, 1989.

TEJO, D. P.; SANTOS FERNANDES, C. H.; BURATTO, J. S. Fitonematoides e Estratégias Adotadas em seu Controle. *Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde*, v. 24, n. 2, p. 126-130, 2019.

TERAMOTO, A.; MACHADO, T. A.; NASCIMENTO, L. M.; MEYER, M. C.; CUNHA, M. G. Sensibilidade a fungicidas de isolados de *Corynespora cassiicola* provenientes do Estado de Goiás. In: Congresso Brasileiro de Soja, 6., 2012, Cuiabá. 2012. 1 CD-ROM.

TODOROVA, S.I.; CODERRE, D.; DUCHESNE, R.M.; CÔTÉ, J.C. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicides and herbicides. *Environ. Entomol.*, v.27, n.2,

TONIN, R. F. B.; AVOZANI, A.; DURANTE DANELLI, A. L.; REIS, E. M.; ZOLDAN, S. M.; GARCÉS-FIALLOS, F. R. *In vitro* mycelial sensitivity of *Macrophomina phaseolina* to fungicides. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 43, p. 460-466, 2013.

TORGESON, D. C. Determinação e medição da fungitoxicidade. Em: TORGESON, D. C. *Fungicidas: an advanced treatise (Fungicidas: um tratado avançado)*. Nova York: Academic Press, 1967. p. 162-167.

TORRES-CALZADA, C., TAPIA-TUSSELL, R., HIGUERA-CIAPARA, I., MARTIN-MEX, R., NEXTICAPAN-GARCEZ, A., PEREZ-BRITO, D. Sensitivity of

*Colletotrichum truncatum* to four fungicides and characterization of thiabendazole-resistant isolates. *Plant Dis.* 99:1590-1595. 2015.

VENÂNCIO, W. S.; ZANGONEL, J. Novos fungicidas. I produtos naturais e derivados sintéticos: estrobilurinas e fenilpirroles. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 7, p. 103-155, 1999.

WENDLAND, A.; MOREIRA, A. S.; BIANCHINI, A.; GIAMPAN. J. S.; LOBO JUNIOR, M. Doenças do Feijoeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. CAMARGO, L.E.A. (Eds.). *Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. 5. ed. São Paulo: Ceres, 2016. v. 2, p. 383–390.

WRATHER, J. A.; KOENNING, S. R. Estimates of disease effects on soybean yields in the United States 2003 to 2005. *Journal of nematology*, v. 38, n. 2, p. 173, 2008.

YANG, X. B.; NAVI, S. S. First report of charcoal rot epidemics caused by *Macrophomina phaseolina* in soybean in Iowa. *Plant Disease*, v. 89, n. 5, p. 526-526, 2005.

ZAMBOLLM, L.; VALE, F.X.R.; CHAVES, G.M. *Controle químico de doenças de plantas*. Brasília: ABEAS, 307p, 1995.

ZHAN, J.; MCDONALD, B. A. Experimental measures of pathogen competition and relative fitness. *Annual Review of Phytopathology*, 51: 131-153, 2013.

ZHAO, L.; CAI, J.; HE, W.; ZHANG, Y. *Macrophomina vaccinii* sp. nov. causing blueberry stem blight in China. *MycKeys*, 55: 1-14, 2019.