



INSTITUTO FEDERAL
GOIANO
Câmpus Urutaí

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CÂMPUS URUTAÍ
CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA

KELLY CANEDO DOS SANTOS

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Colletotrichum* spp.
ORIUNDOS DE SOJA À MISTURAS DE FUNGICIDAS**

URUTAÍ – GOIÁS
2019

KELLY CANEDO DOS SANTOS

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Colletotrichum* spp.
ORIUNDOS DE SOJA À MISTURAS DE FUNGICIDAS**

Monografia apresentada ao IF
Goiano Campus Urutaí como parte
das exigências do Curso de
Graduação em Agronomia para
obtenção do título de Bacharel em
Agronomia.
Orientador: Prof. Dr. Milton Luiz
da Paz Lima.

URUTAÍ - GOIÁS
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Urutaí

M929m Santos, Kelly Canedo

SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Colletotrichum* spp.
ORIUNDOS DE SOJA À MISTURAS DE FUNGICIDAS
/ Kelly Canedo dos Santos. -- Urutaí, GO: IF Goiano, 2019.
36 fls.

Orientador: Prof. Dr. Milton Luiz da Paz Lima.

Monografia (Graduação) – Instituto Federal Goiano campus Urutaí,
2019.

1. Antracnose.
2. *C. truncatum*.
3. Populações insensíveis.
4. Porcentagem de germinação.
5. *Glycine max*.
6. Eficiência de controle.

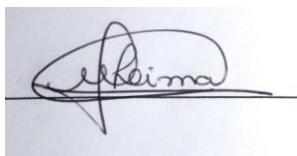
CDU 631/635

KELLY CANEDO DOS SANTOS

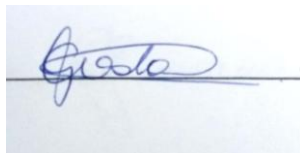
**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Colletotrichum* spp.
ORIUNDOS DE SOJA À MISTURAS DE FUNGICIDAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao IF Goiano-Campus Urutaí, como parte das exigências do Curso de Graduação em Agronomia para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

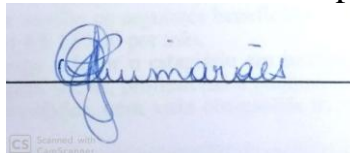
Aprovada em 13 de dezembro de 2019.



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



Avaliador: Dra. Gleina Costa Silva Alves
Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí



Avaliador: Me. Gesiane Ribeiro Guimarães
Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí

URUTAÍ – GOIÁS
2019



TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- Tese
- Dissertação
- Monografia - Especialização
- TCC - Graduação
- Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____
- Artigo Científico
- Capítulo de Livro
- Livro
- Trabalho Apresentado em Evento

Nome Completo do Autor: Kelly Canedo dos Santos
Matrícula: 2015101200240295

Título do Trabalho: Sensibilidade de sorvedores de Colletotrichum spp. associados de soja à umidade de fungicidas.

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 18/12/19
O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não
O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

- O/A referido/a autor/a declara que:
- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
 - obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
 - cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

União Local 18/12/19 Data

Kelly Canedo dos Santos
Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:
[Assinatura]
Assinatura do(a) orientador(a)



ATA DE APRESENTAÇÃO DE TRABALHO DE CURSO

Aos 13 dias do mês de dezembro de dois mil e dezenove reuniram-se: Prof. Dr. MILTON LUIZ DA PAZ LIMA, Profa. Dra. GLEINA COSTA SILVA ALVES, MSc. GESIANE RIBEIRO GUIMARÃES nas dependências do Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí (GO), para avaliar o Trabalho de Curso do(a) acadêmico(a): KELLY CANEDO DOS SANTOS, como requisito necessário para conclusão do Curso Superior de Bacharelado em Agronomia. O presente TC tem como título: SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Colletotrichum* spp. ORIUNDOS DE SOJA À MISTURAS DE FUNGICIDAS.


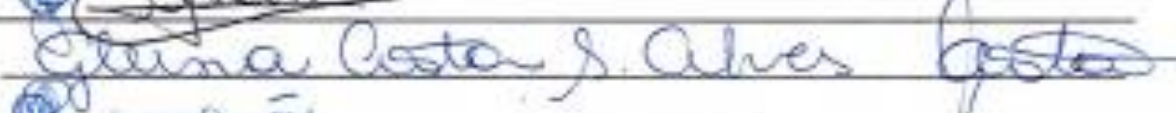
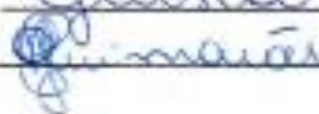
Após análise, foram dadas as seguintes notas:

Avaliadores	Notas
1. Prof. Dr. MILTON LUIZ DA PAZ LIMA	9,5
2. Profa. Dra. GLEINA COSTA SILVA ALVES	9,8
3. MSc. GESIANE RIBEIRO GUIMARÃES	9,4
Média final:	9,6

OBSERVAÇÕES:

Por ser verdade firmamos a presente:

Nome e Assinatura:

1. 
2. 
3. 

RESUMO

RESUMO: A antracnose é uma doença que causa vários danos na soja, é a principal doença que afeta a formação das vagens, pode causar morte de plântulas e manchas negras nas nervuras das folhas, hastes e vagens. No cerrado a maior incidência da doença ocorre principalmente devido a elevada 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 a coleção Micológica do Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, a fungicidas de distintos ingredientes ativos, incorporados ao BDA nas concentrações de 0; 0,1; 1,0; 10 e 100 ppm. Foi avaliada a porcentagem de germinação de conídios do fungo quando submetidos aos fungicidas: Ativum (piraclostrobina + epoxiconazol + fluxapirroxade), Orkestra (fluxapirroxade + piraclostrobina) e Fox (protioconazol + trifloxistrobina) para estabelecer qual deles apresentou uma maior eficiência de controle. Verificou-se que o aumento progressivo das doses promove reduções no crescimento micelial. O isolado IF15 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 insensíveis. *Glycine max*. Controle químico. Eficiência de controle.

ABSTRACT

ABSTRACT: Anthracnose is a disease that causes severe damage to soybeans, is the main disease that affects the formation of pods, can cause seedling death and black spots on the leaves, stems and pods. In the Cerrado the highest incidence of the disease occurs mainly due to high precipitation and high temperature. The difficulty in controlling the disease can be attributed to the selection pressure promoted by fungicides in agriculture that stimulates pathogen variability mechanisms to develop populations insensitive to chemical molecules. Today, contact and systemic fungicide mixtures are recommended as they provide the most effective protection against major soil fungi such as *Colletotrichum truncatum*. The objective of this work was to evaluate in vitro the sensitivity of different isolates of *C. truncatum* collected at different sites, which belong to the Mycological Collection of the Federal Institute Goiano - Campus Urutaí, to fungicides of different active ingredients, incorporated into BDA at concentrations of 0; 0.1; 1.0; 10 and 100 ppm. The percentage of conidial germination of the fungus was evaluated when submitted to the fungicides: Ativum (piraclostrobin + epoxiconazole + fluxapiroxade), Orkestra (fluxapiroxade + piraclostrobin) and Fox (protioconazole + trifloxystrobin) to establish which one had the highest control efficiency. He found that the progressive increase in doses promotes reductions in mycelial growth. The IF15 isolate was confirmed by both the area below the mycelial growth progress curve and the mycelial growth rate, as sensitive to all fungicides studied. It can verify the great variability of sensitivity of *C. truncatum* isolates with different molecules and the importance of detection of resistant populations.

KEYWORDS: *C. truncatum*. Insensitive populations. *Glycine max*. Chemical control. Control efficiency.

SUMÁRIO

LISTAGEM DE TABELAS	11
INTRODUÇÃO	13
MATERIAL E MÉTODOS	16
RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS	41

LISTAGEM DE TABELAS

Tabela 1. Listagem de misturas de fungicidas, nome comercial, concentração e mecanismo de ação.....	13
Tabela 2. Listagem de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp. e origem de coleta.....	14
Tabela 3. 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*.....	19
Tabela 4. Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (trifloxistrobina + protioconazol) em relação a concentração utilizada.....	20
Tabela 5. Porcentagem de inibição em diferentes concentrações da mistura de fungicidas (trifloxistrobina + protioconazol), dosagem letal capaz de inibir o crescimento micelial em 50 % e grupos de reação da sensibilidade.....	21
Tabela 6. Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapíroxade) em relação aos isolados*.....	24
Tabela 7. Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapíroxade) em relação a concentração utiliza.....	25
Tabela 8. Porcentagem de inibição em diferentes concentrações da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapíroxade), dosagem letal capaz de inibir o crescimento micelial em 50 % e grupos de reação da sensibilidade.....	26
Tabela 9. Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapíroxade + epoxiconazol) em relação aos isolados.....	28

Tabela 10. Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapirroxade + epoxiconazol) em relação a concentração utilizada.....29

Tabela 11. 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.....30

INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Men.] possui grande importância econômica em todo mundo, sendo considerada umas das principais commodity agrícolas. Porém, existem inúmeros fatores que podem afetar o alto rendimento da cultura como clima e solo (SEDDIYAMA et al., 2015).

Na safra 18/19 o Brasil produziu ordem de 115,07 milhões de toneladas, sob uma área de 35,87 milhões de hectares. A produtividade prevista para a oleaginosa no país é de 3,1 t ha⁻¹ em relação à safra passada, o volume é de 2,1% maior (CONAB, 2019).

Podemos descrever como 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* e *C. liviae*), cretamento 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 e 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). A doença apresenta infecção latente, caracterizada inicialmente por sintomas em plântulas já emergidas apresentando necrose e tombamento, podendo evoluir para sintomas em estádios fenológicos progredidos (SINCLAIR e SHURTLEFF, 1975), com necrose em hastes, folhas e vagens, incluindo abertura imatura e torção de vagens e germinação antecipada de grãos (BACKMAN et al., 1982; REIS et al., 2012), sendo que as sementes infectadas e os restos culturais são fontes primárias do inóculo da doença (MANANDHAR e HARTMAN, 1999).

Ainda que não existam 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 pelo mecanismo de ação e pelo grupo químico. 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 (BARTLETT et al., 2002) 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 (PICININI e FERNANDES, 2000).

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 (EUROPEAN, 1988). Para espécies de *Colletotrichum*, a resistência já foi relatada à benzimidazol, estrobilurina e triazol causando repetidamente a redução da eficácia desses fungicidas (CHUNG et al., 2006; WONG; MIDLAND, 2007).

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. 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 e a fungitoxicidade de fungicidas com diferentes

mecanismos de ação. A informação obtida no presente estudo é essencial para monitorar a efetividade do manejo aplicado para o controle desta doença e verificar a variação na sensibilidade de isolados de *C. truncatum*.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade de isolados de *C. truncatum*, proveniente de diferentes regiões produtoras de soja, a fungicidas de distintos mecanismos de ação, isolados ou em misturas, além da determinação do Ec 50. Os fungicidas escolhidos foram: Fox (trifloxistrobina + protioconazol), Orkestra (piraclostrobina + fluxapiroxade) e Ativum (piraclostrobina + fluxapiroxade + epoxiconazol), todos registrados para o controle da Antracnose da soja (*Colletotrichum truncatum*).

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia do Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, em 2019. Os 18 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 código 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 saturada 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.

Tabela 1. Listagem de misturas de fungicidas, nome comercial, concentração e mecanismo de ação.

Ingrediente Ativo	Nome Comercial	Concentração (g/L)	Mecanismo de Ação
trifloxistrobina + protioconazol	Fox [®]	150+175	IQe + IDM
piraclostrobina + fluxapiroxade	Orkestra [®]	333+167	IQe + ISDH
piraclostrobina + fluxapiroxade + epoxiconazol	Ativum [®]	50+81+50	IQe + IDM + ISDH

*IQe (estrobilulina), ISDH (Carboxamida), IDM (Triazol).

Foram realizadas 3 repetições de cada dose, considerando os 18 isolados (Tabela 2) e as 5 doses, totalizaram 1.080 placas por fungicida, contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA). Todo o experimento foi realizado em câmara de fluxo.

Tabela 2. Listagem de isolados de *Colletotrichum* spp. e origem de coleta.

Código do isolado	Código	Origem
Isolado 1	IF 1	Passo Fundo – RS
Isolado 2	IF2	Passo Fundo – RS
Isolado 3	IF 3	Passo Fundo – RS
Isolado 4	IF 4	Passo Fundo – RS
Isolado 5	IF 5	Brasília – DF
Isolado 6	IF 6	Brasília – DF
Isolado 7	IF 7	Brasília – DF
Isolado 8	IF 8	Brasília – DF
Isolado 9	IF 9	Urutaí – GO
Isolado 11	IF 11	Urutaí – GO
Isolado 12	IF 12	Urutaí – GO
Isolado 13	IF 13	Urutaí – GO
Isolado 14	IF 14	Urutaí – GO
Isolado 15	IF 15	Urutaí – GO
Isolado 16	IF 16	Uberlândia-MG
Isolado 17	IF 17	Urutaí – GO
Isolado 18	IF 18	Urutaí – GO

No dia seguinte da preparação do meio de cultura batata-dextrose-água (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 difundiu-se as concentrações de fungicidas.

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 (CAMPBELL e

MADDEN, 1990). 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⁻¹. 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.

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 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 $P \leq 0,05$. Fez-se análise de componentes principais (CP), correlações canônicas (CN) e agrupamento utilizando medida de similaridade de Malahanobis, afim de verificar relacionamentos de forma individual e das interações, entre os isolados com as variáveis dependentes utilizando o programa livre “R” (R, 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum* spp. oriundos de soja à trifloxistrobina + protioconazol (FOX[®])

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 3).

A área a baixo 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 IF9, IF12 e IF17, diferindo estatisticamente dos demais, podendo ser representados por isolados mais insensíveis a mistura trifloxistrobina+protioconazol (Tabela 3). A AACPCM em todas as dosagens da mistura de fungicidas indicaram estatisticamente que as menores médias observadas nos isolados foram IF4, IF15 e IF16, podendo serem considerados perante todos os isolados avaliados os isolados mais sensíveis a mistura trifloxistrobina+protioconazol no grupo de isolados avaliados (Tabela 3). Os isolados considerados mais insensíveis cresceram 1,76 vezes mais que os isolados sensíveis em meios de culturas contendo dosagens crescentes da mistura de fungicidas (Tabela 3).

Yokosawa et al. (2017) sugere 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 IF17 e IF8, apresentaram as maiores médias diferindo estatisticamente dos demais isolados (Tabela 3). Já os isolados IF4, IF15, IF16 e IF8, 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 segundo esse parâmetro (Tabela 4). Este comportamento pode ter ocorrido devido a uma menor pressão de seleção sobre estes isolados a campo antes da coleta.

Lopes et al. (2015) nas 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 do 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 a área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial notasse que a dose que apresentou maior crescimento micelial foi a dose 0ppm 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 4).

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.

Na mistura trifloxistrobina+protioconazol, os isolados que apresentaram respectivamente maior e menor crescimento micelial foram: IF1, IF4, IF5 e IF16 e IF8, IF9, IF12 e IF17 (0,1ppm), IF4, IF15 e IF18 e IF5, IF17, IF14 e IF11 (1ppm), IF5, IF15, IF16 e IF18 e IF11, IF12, IF14 e IF17 (10ppm) e IF1, IF4, IF15, IF16 e IF18 e IF2, IF5, IF8 e IF9 (100ppm) (Tabela 5).

É possível observar que os isolados IF4, IF15, IF16 e IF18 destacaram-se com altos índices de crescimento em ao menos três dosagens inclusive na maior dose representada por 100 ppm, enquanto os isolados IF8, IF9, IF12, IF13 e IF17 apresentaram menores índices de crescimentos em ao menos 3 dosagens com destaque para o IF9 e IF13 que se mantiveram entre os isolados de menor crescimento em todas as dosagens utilizadas (Tabela 5).

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 ante resistência (WONG & 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 IF3 e IF17 e sensíveis foram IF4, IF5, IF7, IF8, IF9 IF12, IF14, IF15, IF16 e IF18. Ao realizar a análise de DL50 dos isolados observou-se que os isolados que apresentaram menores e maiores índices de sensibilidade foram respectivamente IF4 (Sensível), IF18 (Sensível) e IF12 (Sensível) e IF11 (Intermediário), IF3 (Insensível) e IF17 (Insensível) (Tabela 5).

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 3. 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 ⁻¹)
IF1	94,65 fg	3,69 fg
IF2	99,82 de	3,94 de
IF3	100,67 ef	3,72 fg
IF4	80,75 Ij	3,22 hi
IF5	95,00 hi	3,61 gh
IF6	104,38 de	3,91 de
IF7	100,97 de	3,91 ef
IF8	100,95 cd	4,22 ab
IF9	107,87 ab	4,11 cd
IF11	100,67 ef	3,92 ef
IF12	106,30 ab	4,16 bc
IF13	107,16 bc	4,09 bc
IF14	96,90 gh	3,72 fg
IF15	64,07 Ij	2,96 hi
IF16	69,22 Ij	2,65 i
IF17	114,33 A	4,54 a
IF18	56,20 J	2,52 i
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,97577 ^{ns}	0,9851 ^{ns}
Bartlett (Homogeneidade)	47,773 ^{**}	63,2014 ^{ns}
Valor F _{16,32}	5,236 ^{**}	3,9 ^{**}
Coefficiente de Variação (%)	30,98	36,97
Valor de Friedman	40,5752^{**}	39,6863^{ns}

*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.

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

Tratamentos	AACPCM	TCM (% dia ⁻¹)
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 _{4,8}	5,1171**	1,8310**
Coefficiente 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~0,05; coeficientes marcados em negritos representam os testes que os testes de médias foram implementados.

Tabela 5. Porcentagem de inibição em diferentes concentrações da mistura de fungicidas (trifloxistrobina + protioconazol), 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 ⁻¹)	Sensibilidade
IF1	4,55 ab	4,6 fg	4,70 cd	6,84 ab	120,31 a	Intermediária
IF2	3,49 ef	4,84 fg	4,55 de	3,97 ef	219,19 a	Intermediária
IF3	3,26 ef	5,22 fg	4,88 de	4,19 ef	809,07 a	Insensível
IF4	4,88 a	8 A	4,76 cd	5,13 bc	34,72 a	Sensível
IF5	4,03 bc	4,17 G	5,71 bc	3,70 f	75,75 a	Sensível
IF6	3,47 cd	4,87 fg	4,49 de	4,31 de	235,86 a	Intermediária
IF7	3,45 cd	5,56 cd	3,88 de	4,08 ef	69,07 a	Sensível
IF8	2,98 ef	5,04 ef	3,61 ef	3,97 ef	65,18 a	Sensível
IF9	3,16 ef	4,63 fg	3,97 ef	3,73 f	70,75 a	Sensível
IF11	4,19 bc	4,51 fg	3,37 ef	4,26 de	264,80 a	Intermediária
IF12	3,20 ef	5,46 de	3,07 f	4,01 ef	54,79 a	Sensível
IF13	3,30 ef	4,66 fg	3,65 ef	3,99 ef	142,96 a	Intermediária
IF14	3,35 de	4,43 fg	3,51 ef	4,44 cd	78,38 a	Sensível
IF15	3,38 cd	7,6 ab	16,15 ab	18,18 a	88,71 a	Sensível
IF16	5,68 bc	6,01 de	15,76 a	33,33 a	68,57 a	Sensível
IF17	2,72 f	4,21 fg	3,01 f	4,48 de	850,25 a	Insensível
IF18	4,25 bc	6,14 bc	16,67 a	100,00 a	34,72 a	Sensível
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,8628 ^{ns}	0,8963 ^{ns}	0,8148 ^{**}	0,5476 ^{ns}	0,7890 ^{**}	-
Bartlett (Homogeneidade)	54,5600 ^{ns}	46,7250 ^{ns}	49,0960 ^{**}	67,0570 ^{ns}	67,2510 ^{**}	-
Valor F _{16,32}	0,0033^{**}	0,0005^{**}	8,4330 ^{**}	692,0756^{**}	0,1748 ^{ns}	-
Coefficiente de Variação (%)	20,35	18,38	54,54	21,14	1374,90	-
Valor de Friedman	34,9102 ^{**}	27,9786 ^{**}	35,3167^{**}	37,8236 ^{**}	7,6078^{ns}	-

*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.

Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum* spp. oriundos de soja a piraclostrobina + fluxapirroxade (Orkestra®)

A área a baixo da curva de progresso do crescimento micelial indicou estatisticamente maiores e menores índices nos isolados IF17, IF5, IF4 e IF9 e IF15, IF16, IF18 e IF13. Já os isolados que apresentaram maior e menor taxa de crescimento micelial diário foram IF17, IF1, IF4 e IF5 e IF16, IF15, IF18 e IF4 (Tabela 6). É possível ver 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 a 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 7).

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+fluxapirroxade os isolados que apresentaram respectivamente, maior e menor crescimento micelial foram IF15, IF8, IF14 e IF5 e IF18, IF4, IF17 e IF3 (0,1ppm), IF16, IF15 e IF18 e IF17, IF7, IF1 e IF12 (1ppm), IF16, IF18 e IF15 e IF11, IF12, IF17 e IF1 (10ppm) e IF15, IF16 e IF18 e IF5, IF17, IF8 e IF12 (100ppm) (Tabela 7).

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 IF15, IF16 e IF18 que se destacaram com altos índices de crescimento em ao menos três dosagens inclusive na maior dose representada por 100 ppm, enquanto os isolados IF13 e IF17 apresentaram menores índices de crescimentos em ao menos 3 dosagens com destaque para o IF17 que se manteve entre os isolados de menor crescimento em todas as dosagens utilizadas (Tabela 8).

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 IF16, IF17, IF11 e IF2 e menores foram IF5, IF7, IF8 e IF15. Ao realizar a análise de DL50 dos isolados observou-se que os isolados que apresentaram menores e maiores índices de sensibilidade foram respectivamente IF16 (Sensível), IF11 (Sensível), IF17 (Sensível) e IF2 (Sensível) e IF8 (Insensível), IF15 (Insensível), IF7 (Insensível) e IF5 (Insensível) (Tabela 8).

Tabela 6. 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*.

Tratamentos	AACPCM	TCM (% dia ⁻¹)
IF1	113,67 De	4,32 ab
IF2	112,22 Ef	3,87 ef
IF3	101,48 Hi	3,88 ef
IF4	118,08 Ab	4,21 ab
IF5	117,72 Bc	4,10 cd
IF6	111,32 Ef	3,89 ef
IF7	107,63 Fg	3,63 fg
IF8	104,23 Gh	3,91 de
IF9	115,78 Cd	4,06 bc
IF11	114,43 De	3,91 de
IF12	111,92 De	3,78 ef
IF13	98,26 Hi	3,39 gh
IF14	99,53 Hi	3,28 hi
IF15	51,25 J	1,59 i
IF16	59,95 J	1,20 hi
IF17	128,72 A	4,50 ab
IF18	75,73 Ij	2,48 hi
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,96226 ^{ns}	0,96985 ^{ns}
Bartlett (Homogeneidade)	74,1 ^{**}	81,79 ^{ns}
Valor F _{16,32}	86,9710 ^{**}	65,579 ^{**}
Coefficiente de Variação (%)	26,01181	33,94579
Valor de Friedman	43,9739^{**}	42,8214^{ns}

*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.

Tabela 7. Área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial e taxa de crescimento micelial diário da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapirroxade) em relação a concentração utilizada.

Tratamentos	AACPCM	TCM (% dia ⁻¹)
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 ^{ns}	0,8775 ^{ns}
Bartlett (Homogeneidade)	19,103 ^{ns}	27,362 ^{ns}
Valor F _{4,8}	1,6410**	1.597e-07**
Coeficiente de Variação (%)	34,53	32,05
Valor de Friedman	11,4667**	12,0000^{ns}

*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.

Tabela 8. Porcentagem de inibição em diferentes concentrações da mistura de fungicidas (piraclostrobina + fluxapiroxade), dosagem letal capaz de inibir o crescimento micelial em 50 % e grupos de reação da sensibilidade.

Tratamentos	0.1	1	10	100	DL 50	SENSIBILIDADE
IF1	3,69 ef	3,08 gh	3,70 F	4,29	475,26	ab Intermediário
IF2	3,96 de	3,37 fg	4,15 Ef	4,75	1580,49	c Insensível
IF3	3,43 ef	4,29 bc	4,37 De	4,62	972,03	ab Insensível
IF4	3,37 ef	3,41 ef	3,71 Ef	4,35	78,42	bc Sensível
IF5	4,56 cd	2,87 gh	3,83 Ef	3,53	50,30	bc Sensível
IF6	4,23 cd	3,57 cd	4,01 Ef	4,28	349,73	a Intermediário
IF7	3,62 ef	3,04 gh	3,80 Ef	4,56	41,55	bc Sensível
IF8	4,92 ab	3,3 fg	3,72 Ef	4,20	13,09	bc Sensível
IF9	3,73 de	3,28 fg	4,29 Cd	4,61	269,40	ab Intermediário
IF11	4,45 cd	3,81 de	3,61 F	4,36	2046,36	bc Insensível
IF12	3,93 de	3,26 gh	3,63 F	4,24	842,72	bc Insensível
IF13	4,27 ef	3,31 fg	4,01 Ef	4,45	134,88	bc Intermediário
IF14	4,70 bc	4,01 bc	3,97 Ef	5,13	441,30	ab Intermediário
IF15	14,29 a	15,28 a	7,14 Bc	100,00	27,08	bc Sensível
IF16	3,64 ef	16,67 a	15,38 A	15,25	5199,374	bc Insensível
IF17	3,39 ef	2,7 h	3,66 F	4,01	1883,82	ab Insensível
IF18	3,23 f	14,29 ab	13,33 Ab	10,37	237,14	bc Intermediário
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 F16,32	73,2994***	146,5007***	195,3292***	692,0756***	0,4915	-
Coefficiente de Variação (%)	11,370	12,39	8,21	28,67	71,835,860	-
Valor de Friedman	3,460,328	3,860,213	3,119,012	3,147,037	1,614,385	-

*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.

Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum* spp. oriundos de soja a piraclostrobina + fluxapiróxade + epoxiconazol (Ativum®)

A área a baixo da curva de progresso do crescimento micelial indicou estatisticamente maiores e menores índices nos isolados IF4, IF8, IF2 e IF11 e IF15, IF18, IF16 e IF12. Já os isolados que apresentaram maior e menor taxa de crescimento micelial diário foram IF8, IF4, IF2, IF6 e IF13 e IF18, IF15, IF16 e IF12 (Tabela 9).

Houve grande variação entre os isolados quanto a 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.

Quando se analisa 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 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 9). Progressão está esperada devido ao aumento da concentração dos fungicidas, resultados semelhantes foram obtidos por Reis; Casa; Reis, (2012) apontaram que onde observou-se que o aumento da dose dos fungicidas diminuiu o crescimento micelial e germinação dos esporos.

Na mistura piraclostrobina+fluxapiróxade+epoxiconazol, os isolados que apresentaram respectivamente maior e menor crescimento micelial foram: IF5, IF18, IF14 e IF12 e IF4, IF11, IF2 e IF6 (0,1ppm), IF17, IF5, IF3 e IF12 e IF11, IF8, IF4 e IF2(1ppm), IF15, IF16, IF3 e IF4 e IF2, IF11, IF5 e IF6 (10ppm) e IF15, IF16, IF18 e IF1 e IF3, IF2, IF8 e IF4 (100ppm) (Tabela 10).

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 IF2, IF3, IF12 e IF13 e menores foram IF1, IF5, IF15 e IF18. Ao realizar a análise de DL50 dos isolados observou-se que os isolados que apresentaram menores e maiores índices de

sensibilidade foram respectivamente IF2 (Sensível), IF13 (Sensível), IF12 (Sensível) e IF3 (Sensível) e IF5 (Insensível), IF1 (Insensível), IF15 (Insensível) e IF18 (Insensível) (Tabela 11).

Tabela 9. 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.

Tratamentos	AACPCM	TCM (% dia ⁻¹)
IF1	131,3 gh	5,6
IF2	157,1 bc	7,4
IF3	132,7 gh	6,0
IF4	165,8 a	7,6
IF5	139,7 fg	6,8
IF6	147,0 ef	7,1
IF7	151,3 de	6,6
IF8	159,9 ab	7,7
IF9	144,4 ef	6,6
IF11	154,6 cd	7,3
IF12	120,5 hi	5,2
IF13	148,4 ef	7,1
IF14	149,8 ef	6,5
IF15	78,1 i	3,6
IF16	93,4 hi	4,1
IF17	141,8 ef	6,4
IF18	82,8 i	3,6
Shapiro-Wilk (Normalidade)	0,8203 ^{ns}	0,90483 ^{ns}
Bartlett (Homogeneidade)	6,3888 ^{**}	8,7986 ^{ns}
Valor F _{16,32}	75,5509 ^{**}	1,453e-13 ^{***}
Coefficiente de Variação (%)	49,35	48,55
Valor de Friedman	43,7908^{**}	2,8300^{ns}

*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.

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

Tratamentos	AACPCM	TCM (% dia⁻¹)
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 ^{ns}	0,9527 ^{ns}
Bartlett (Homogeneidade)	43,294 ^{ns}	27,362 ^{ns}
Valor F _{4,8}	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.

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

Tratamentos	0,1	1	10	100	DL 50	SENSIBILIDADE
IF1	10,74 Cd	28,19 a	24,13 de	98,94 de	40,85 a	Sensível
IF2	4,43 Cd	2,25 bc	1,27 ef	63,95 ef	73,61 a	Sensível
IF3	11,03 Cd	36,92 ef	25,83 de	59,81 de	57,69 a	Sensível
IF4	0,82 Cd	1,39 bc	29,91 bc	76,93 bc	53,65 a	Sensível
IF5	48,21 A	44,26 ef	9,30 ef	83,63 ef	35,70 a	Sensível
IF6	4,52 Cd	6,56 ab	12,77 ef	88,77 ef	50,77 a	Sensível
IF7	18,89 Bc	33,27 a	21,38 de	86,42 de	46,81 a	Sensível
IF8	8,71 Cd	1,33 de	25,14 cd	70,54 cd	55,20 a	Sensível
IF9	19,20 Cd	21,77 ef	24,36 de	80,59 de	56,58 a	Sensível
IF11	1,69 Cd	0,56 cd	7,34 ef	80,79 ef	50,14 a	Sensível
IF12	29,05 Ab	36,73 a	24,01 de	88,27 de	58,14 a	Sensível
IF13	16,71 Ab	3,37 ef	17,03 ef	87,79 ef	65,19 a	Sensível
IF14	34,53 A	10,68 ab	19,03 de	92,06 de	47,91 a	Sensível
IF15	13,46 Bc	9,18 bc	77,13 a	100,00 a	45,57 a	Sensível
IF16	27,21 Ab	20,41 a	48,30 ab	100,00 ab	50,30 a	Sensível
IF17	4,78 Cd	53,77 f	18,91 f	85,76 f	54,05 a	Sensível
IF18	39,42 Ab	17,59 ab	25,75 cd	100,00 cd	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 _{16,32}	0,1165**	6,5860**	0,0003**	0,0007**	0,9649	-
Coefficiente de Variação (%)	356,294	4,019,262	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.

Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum* spp. oriundos de soja a trifloxistrobina + protioconazol / piraclostrobina + fluxapiróxade / piraclostrobina + fluxapiróxade + epoxiconazol.

A área a baixo da curva de progresso do crescimento micelial (AACPCM) identificou que os isolados mais insensíveis a mistura de trifloxistrobina+protioconazol foram IF9, IF12 e IF17, enquanto que para a mistura de piraclostrobina + fluxapiróxade foi representado por IF17, IF5, IF4 e IF9, e para piraclostrobina + fluxapiróxade + epoxiconazol os maiores valores foram de IF4, IF8, IF2 e IF11. É possível analisar que os isolados IF9 e IF17 é insensível tanto a trifloxistrobina + protioconazol e piraclostrobina + fluxapiróxade. enquanto que para piraclostrobina + fluxapiróxade + 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 piraclostrobina 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 fluxapiróxade do grupo das carboxamidas, inibidores de respiração no complexo 2, dehidrogenase succinato (fungicidas SDHI, código FRAC 07).

Já os isolados sensíveis a trifloxistrobina+protioconazol foi representado por IF4, IF15 e IF16, enquanto que para piraclostrobina + fluxapiróxade foram IF15, IF16, IF18 e IF13 e por fim os isolados sensíveis a piraclostrobina + fluxapiróxade + epoxiconazol foram representados por IF15, IF18, IF16 e IF12. Desta forma percebe-se que o isolado IF15 é comum para ambos os fungicidas.

Em relação a taxa de crescimento micelial diário é possível analisar que para trifloxistrobina+protioconazol os isolados IF17 e IF8 apresentaram as maiores médias, já para piraclostrobina + fluxapiróxade os dados maiores foram de IF17, IF1, IF4 e IF5, enquanto que para piraclostrobina + fluxapiróxade + epoxiconazol foram IF8, IF4, IF2, IF6 e IF13. Deste modo percebemos que o IF17 é comum aos dois primeiros fungicidas e o IF8 é comum a trifloxistrobina+protioconazol e piraclostrobina+fluxapiróxade+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 IF4, IF15, IF16 e IF8 a trifloxistrobina + protioconazol, IF16, IF15, IF18 e IF4 a piraclostrobina+fluxapiróxade, e por fim IF18, IF15, IF16 e IF12 a piraclostrobina+fluxapiróxade+epoxiconazol. Onde o isolado IF15 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 0ppm e menor dose 100ppm 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-se 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 IF4 (Sensível), IF18 (Sensível) e IF12 (Sensível) e IF11 (Intermediário), IF3 (Insensível) e IF17 (Insensível) para a mistura de trifloxistrobina + protioconazol. Já para piraclostrobina + fluxapiróxade foram destacados IF16(Sensível), IF11(Sensível), IF17(Sensível), IF2(Sensível) e IF8(Insensível), IF15(Insensível), IF7(Insensível) e IF5(Insensível). Enquanto que para a mistura piraclostrobina + fluxapiróxade + epoxiconazol foi destacado IF2(Sensível), IF13(Sensível), IF12(Sensível), IF3(Sensível) e IF5 (Insensível), IF1(Insensível), IF15(Insensível) e IF18(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 IF5). Já em outros casos, temos isolados considerados sensível a um fungicida comercial e insensível a outro. Como é o caso do IF3, que é insensível a trifloxistrobina + protioconazol, e sensível a piraclostrobina + fluxapiróxade + epoxiconazol. Demonstrando assim, a variabilidade existente de sensibilidade de isolados de *Colletotrichum truncatum* a diversos fungicidas.

CONCLUSÕES

O aumento progressivo das doses promove reduções no crescimento micelial, demonstrando a eficiência dos fungicidas no controle dos isolados.

O isolado IF15 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 médias.

Para a mistura trifloxistrobina+protioconazol o isolado IF17 de *C. truncatum* foi o isolado considerado mais insensível, para a mistura piraclostrobina+fluxapiróxade o isolado mais insensível foi também o isolado IF17, e para a mistura piraclostrobina+fluxapiróxade+epoxiconazol o isolado considerado mais insensível foi IF4.

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.

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., 2018. Controle químico. In Manual de fitopatologia, princípios e conceitos, Ouro Fino, MG: Editora Agronômica Ceres, p. 239–260.

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.

AZEVEDO, L. A. S. Manual de quantificação de doenças de plantas. Editora Novartis, São Paulo, SP, 114 p., 1998.

BACKMAN, P. A.; WILLIAMS, J. C.; CRAWFORD, M. A. Yield losses in soybeans from anthracnose caused by *Colletotrichum truncatura*. *Plant Disease*, v. 66, n. 11, p. 1032-1034, 1982.

BARTLETT, D. W.; CLOUGH, J. M.; GODWIN, J. R.; HALL, A. A.; HAMER, M.; PARR-DOBZANSKI B. The strobilurin fungicides. *Pest Management Science*, v. 58, n. 7, p. 649-662, 2002.

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

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.

CONAB., Acompanhamento da safra brasileira de grãos. 2019. Disponível em <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>> Acesso: 31 de outubro de 2019.

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.

COSTA, I. F. D.; BALARDIN, R. S.; MEDEIROS, L. A. M.; LENZ, G. E; GULART, C. A.; ZEMOLIN, C. R.; SILVA, T. M. B. Reação de germoplasma comercial de soja a *Colletotrichum truncatum*. *Trop. Plant Pathol.* 34:47–50. 2009.

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.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. Fungicide resistance: definitions and use of terms. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, v. 18, n.4,

p. 569-571, 1988.

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. Arq. Inst. Biol., v.68, n.2, p.89-95, 2001.

FRAC. Comitê de ação a resistência a fungicidas. Disponível em:< <https://www.frac-br.org/soja>>. Acesso em: 20 de novembro de 2019.

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 de outubro de 2019.

GODOY, C. V., ALMEIDA, L. M., COSTAMILAN, L. M., MEYER, M. C., DIAS, W. P., SEIXAS, C. D. S., SOARES, R. M., HENNING, A. A., YORINORI, J. T., FERREIRA, L. P & SILVA, J. F. V., DOENÇAS DA SOJA. IN: Amorim, L., Rezende, J. A. M., Bergamin Filho, A., Camargo, L. E. A. Manual de fitopatologia, 2(5). Ouro Fino, MG. Editora Agronômica CERES Ltda, 2016.

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.

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.

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 2015; 1(1):106-114.

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.

PEREIRA, D.F.; NEVES, W.S.; ZAMBOLIM, L.; Resistencia de fungos a fungicidas inibidores de quinona. Revista Tropica, Ciências Agrarias e Biologicas, v.3, n.2, p. 24-34, 2009.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. Controle químico da mancha angular e da antracnose

do feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, v. 25, p. 92-94, 2000.

R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>. Acesso em: maio de 2018.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; REIS, A. C. Antracnose. In: REIS, E. M.; CASA, R. T. (Eds.). *Doenças da soja: etiologia, sintomatologia, diagnose e manejo integrado*. 1. ed. Passo Fundo: Berthier, 2012. v. 1, p. 191-198.

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.

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.

SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, H. D.; SILVA, J. R. C.; REIS, E. M. Control of Asian soybean rust with mancozeb, a multi-site fungicide. *Summa Phytopathol.* 41:64–67. 2015.

SINCLAIR, J. B.; SHURTLEFF, M. C. *Compendium of soybean diseases*. 3 eci Si. Paul: APS Press, 1975.

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.

YOKOSAWA, S.; EGUCHI, N.; KONDO, K.; SATO, T. Phylogenetic relationship and fungicide sensitivity of members of the *Colletotrichum gloeosporioides* species complex from apple. *J Gen Plant Pathol* (2017) 83:291–298

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.