

Avaliação de fungicidas, óleos essenciais e agentes biológicos no controle de *Amphobotrys ricini* em mamoneira (*Ricinus communis* L.)

Haroldo Antunes Chagas^{1*}, Marco Antonio Basseto², Daniel Dias Rosa², Eder Victor Braganti Toppa¹, Edson Luiz Furtado^{2**}, Mauricio Dutra Zanotto¹

¹Departamento de Produção Vegetal Setor Agricultura - Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP. CP 237, Botucatu, SP, 18610-307.

²Departamento de Produção Vegetal Setor Defesa Fitossanitária - Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP. CP 237, Botucatu, SP, 18610-307.

*Bolsista CAPES, **Bolsista CNPq

Autor para correspondência: Haroldo Antunes Chagas (haroldo.antunes@yahoo.com.br)

Data de chegada: 10/10/2013. Aceito para publicação em: 03/02/2014.

1801

RESUMO

Chagas, H.A.; Basseto, M.A.; Rosa, D.D.; Toppa, E.V.B.; Furtado, E.L.; Zanotto, M.D.. Avaliação de fungicidas, óleos essenciais e agentes biológicos no controle de *Amphobotrys ricini* em mamoneira (*Ricinus communis* L.). *Summa Phytopathologica*, v.40, n.1, p.42-48, 2014.

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma espécie oleaginosa tropical, sendo o óleo extraído de suas sementes um dos mais versáteis da natureza e com inúmeras aplicações industriais. Embora ainda seja uma espécie rústica, ela está sujeita a diversas doenças, dentre elas o mofo-cinzeno, causada pelo fungo *Amphobotrys ricini*. O melhoramento genético seria a melhor alternativa para o controle da doença, mas demanda tempo para se obter cultivares resistentes. Dessa maneira, o uso de métodos de controle baseado em métodos químicos, alternativos ou biológicos mostra-se viável no curto prazo. O objetivo do trabalho foi estudar a eficiência do controle do mofo-cinzeno, na cultura da mamoneira, utilizando-se de métodos químico, alternativo e biológico. Assim, procurou-se avaliar, tanto *in vitro*, quanto *in vivo* a eficiência de controle do patógeno utilizando-se de fungicidas, óleos essenciais e agentes de controle biológico. Quanto a inibição do crescimento micelial do patógeno *in vitro* os melhores tratamentos com os óleos essenciais foram os com a base de *Cymbopogon martini*

e *Cinnamomum zeylanicum*, nas cinco concentrações testadas. Em ambos os óleos, o diâmetro médio das colônias ficou em 0,7 cm contra a média de 4,79 cm da testemunha. Com os fungicidas, nas quatro concentrações testadas, os mais eficientes foram os ingredientes ativos tiofanato metílico, carbendazim, tebuconazole e iprodione. O ED₅₀ destes fungicidas ficou < 1µL/L, atestando 100% de inibição do crescimento micelial em todas as concentrações. Quanto à inibição da germinação dos conídios de *A. ricini*, os fungicidas tebuconazole e clorotalonil foram os melhores em todas as concentrações testadas, sendo a média dos conídios germinados destes fungicidas de 0,0 e 0,15%, respectivamente, contra 100% da testemunha. No campo, o tratamento com o fungicida iprodione foi o melhor quanto ao controle da doença quando comparados com os tratamentos biológico e alternativo. Em condições de campo, a severidade média da doença com o tratamento com iprodione foi de 15,76% contra 95,81% na testemunha inoculada.

Palavras-chave adicionais: mamona, controle, doença, extratos vegetais e mofo cinzeno.

ABSTRACT

Chagas, H.A.; Basseto, M.A.; Rosa, D.D.; Toppa, E.V.B.; Furtado, E.L.; Zanotto, M.D.. Evaluation of fungicides, essential oils and biological agents on *Amphobotrys ricini* control in castor bean (*Ricinus communis* L.). *Summa Phytopathologica*, v.40, n.1, p.42-48, 2014.

The castor bean (*Ricinus communis* L.) is a tropical oilseed species, and the oil extracted from its seeds is one of the most versatile oils in the nature, showing various industrial uses. Even though it is a rustic species, the castor bean is subjected to several diseases such as the gray mold, caused by the fungus *Amphobotrys ricini*. Genetic breeding would be the best alternative for the disease control, but a long time is required to obtain resistant cultivars. Thus, the use of control strategies based on chemical, alternative or biological methods shows viable in the short term. The aim of this study was to investigate gray mold control efficiency, in castor bean crop, using chemical, alternative and biological methods. The pathogen control efficiency was evaluated both *in vitro* and *in vivo* using fungicides, essential oils and biological control agents. As regards the *in vitro* inhibition of the pathogen mycelial growth, the best treatments with essential oils were those based on *C. martini* and

C. zeylanicum at all five tested concentrations. For both oils, the average diameter of colonies was 0.7 cm against 4.79 cm for the control treatment. For the fungicides, at all four tested levels, the most efficient active ingredients were methyl thiophanate, carbendazim, tebuconazole and iprodione. The ED₅₀ of these fungicides was <1µL/L, yielding 100% mycelial growth inhibition at all concentrations. As to the inhibition of *A. ricini* conidium germination, the fungicides tebuconazole and chlorotanoly were the best at all tested concentrations, and the average of germinated conidia with these fungicides was 0.0 and 0.15%, respectively, against 100% for the control treatment. In the field, treatment with the fungicide iprodione was the best for the disease control when compared to biological and alternative treatments. Under field conditions, the average disease severity for the treatment with iprodione was 15.76% against 95.81% for the inoculated control.

Additional keywords: castor bean, control, disease, vegetal extracts and gray mold.

A mamoneira (*Ricinus communis* L.), também conhecida como carrapateira ou ricino, é uma espécie de origem tropical que vegeta naturalmente desde a longitude 40^o Norte até 40^o Sul. O óleo extraído de suas sementes é um dos mais versáteis da natureza, com inúmeras aplicações industriais (6).

Embora seja uma planta com grande capacidade de adaptação às mais diferentes regiões do mundo, a mamoneira está sujeita a doenças causadas por diversos microorganismos, os quais causam grandes prejuízos econômicos, principalmente quando as condições climáticas lhes são favoráveis (9, 22).

Entre essas doenças, pode-se destacar o mofo cinzento, causado pelo fungo *Amphobotrys ricini* (Buchw.) Hennebert, como uma das mais importantes, pois causa grandes prejuízos à produção, destruindo inflorescências e racemos, e assim reduzindo a produção de óleo pela diminuição dos frutos colhidos (12).

O melhoramento genético vegetal é um mecanismo que visa a obtenção de materiais que apresentem características agronômicas superiores as de seus genitores, sendo que dentro dessas características destacam-se aumento de produtividade, precocidade de desenvolvimento e resistência ao ataque de doenças, entre outras, sendo tudo isso possível através da seleção de genótipos superiores. Entretanto, apesar do melhoramento mostrar-se como alternativa ideal no controle do mofo cinzento, o mesmo esbarra em fatores primordiais para a cultura, como fonte de resistência para a doença e, também, em tempo hábil para os cruzamentos e testes de progênies. Dessa maneira, torna-se interessante um direcionamento das pesquisas para o controle alternativo e químico dessa doença a curto prazo.

O controle químico tem sido empregado na agricultura há cerca de 200 anos para proteger as plantas de doenças provocadas, principalmente, por ataques de fungos. Do início pequeno e primitivo, voltado principalmente para proteção de sementes de cereais e videiras, o número de culturas e das doenças tratadas, a variedade de compostos químicos disponíveis, a área e frequência de seu uso e a eficiência dos tratamentos aumentaram extraordinariamente, principalmente depois da segunda guerra mundial. Foi só na última década que a quantidade e a variedade de tratamentos com fungicidas, no mundo inteiro, atingiu algum grau de estabilidade e maturidade (3).

Dentre os agentes de controle biológico, o fungo filamentosos *Clonostachys rosea* surgiu como um eficaz e versátil antagonista em estudos no final da década de 80, para controlar *Botrytis cinerea* (28).

Outro agente de controle biológico utilizado são os fungos do gênero *Trichoderma* que apresentam relatos de controle em parte aérea de plantas tais como: *Venturia* spp., *Botrytis* spp., *Crinipellis pernicioso*, entre outros; sendo que o seu potencial foi descoberto na década de 30 (30).

Outro método de controle bastante interessante seria o uso de compostos secundários presentes no extrato bruto ou em óleo essencial de plantas medicinais, podendo constituir em mais uma potencial forma de controle alternativo de doenças em plantas (23).

Dessa maneira, esses tipos de controle apresentam-se como uma alternativa, principalmente no que diz respeito a cultura da mamoneira, que desempenha papel importante como fonte de renda para a agricultura familiar,destacadamente na região nordeste.

O objetivo do trabalho foi estudar métodos de controle ao fungo *A. ricini*, agente causal do mofo cinzento na mamoneira, tanto em condições de ensaio *in vitro*, quanto *in vivo*.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliação *in vitro* do crescimento micelial do isolado de *Amphobotrys ricini*, utilizando diferentes concentrações de óleos essenciais e fungicidas

O experimento foi realizado no Laboratório de Patologia Florestal do Setor de Defesa Fitossanitária do Departamento de Produção Vegetal. Foram utilizados sete óleos essenciais das seguintes espécies: *Eucalyptus citriodora* (eucalipto), *Cymbopogon martini* (palma-rosa), *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Mentha piperita* (menta), *Citrus limom* (limão), *Melaleuca alternifolia* (tea tree), *Azadirachta indica* (nim) e testemunha. Foram preparadas 200 placas de Petri contendo meio BDA com 5 diferentes concentrações dos óleos, a saber: 1000; 2000; 3000; 4000 e 5000)µL/L. Replicaram-se para o meio BDA, contendo os tratamentos, discos de 0,7 cm de diâmetro do isolado do fungo (L3) cedido pela Embrapa Algodão de Campina Grande na Paraíba, da borda das colônias com 11 dias de idade e transferidos para o centro das placas e mantidas em câmara do tipo BOD, à 25 °C, com fotoperíodo de 12h, até o 6^o dia.

A avaliação foi realizada por meio da medição diária dos diâmetros (cm) das colônias em dois sentidos perpendiculares entre si, tomando-se como valor de crescimento a média das duas medidas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 8 x 5. Os resultados foram submetidos ao teste de média de Tukey, a 5% de probabilidade.

Foram comparados nove fungicidas comerciais (Tabela 1) de diferentes grupos químicos, tanto usados para tratamento de sementes quanto para parte aérea, para controle do fungo *Botrytis cinerea*.

Para produção do inóculo, discos de micélio do isolado (L3), de 0,7 cm de diâmetro, foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo meio BDA e, posteriormente, incubados sob condições controladas (temperatura de 25° C e fotoperíodo de 12 horas), até a colonização do fungo atingir o diâmetro total da placa.

Para o preparo do meio de cultura com fungicida, cada produto foi adicionado ao meio de cultura BDA. Cada produto utilizado foi diluído em água destilada autoclavada, sob fluxo laminar. Primeiro foi feita uma suspensão estoque I para cada fungicida, ou seja 1 g de i.a. de cada produto comercial, que podia variar de acordo com a porcentagem para cada produto em 100 mL de água, obtendo-se a concentração de 10.000 ppm. A partir desta solução estoque, foram feitas diluições em série, transferindo-se 10 mL da solução estoque para 90 mL de água, obtendo-se a solução estoque II (1.000 ppm), e transferindo-se 10 mL da solução II para 90 mL de água, obtendo-se a solução estoque III (100 ppm) e a última diluição de 10 mL da solução III para 90 mL de água, obtendo-se assim a solução estoque IV (10 ppm). De cada uma dessas soluções estoques, foram retirados 10 mL e transferidos para 90 mL de meio BDA fundente (45-47° C), obtendo-se assim os meios nas diluições de 1000, 100, 10 e 1 ppm, respectivamente.

Discos do meio BDA, de 0,7 cm de diâmetro, contendo micélio do fungo foram transferidos para o centro das placas de Petri com meio BDA com os fungicidas. As testemunhas consistiram de discos de micélio colocados em meio BDA sem fungicida. A incubação ocorreu sob condições controladas, temperatura de 25° C e fotoperíodo de 12 horas.

Cada tratamento foi representado por cinco placas de Petri com 4 concentrações de cada um dos fungicidas, mais a testemunha. O delineamento foi inteiramente casualizado, esquema fatorial 10 X 4, ou seja, 10 tratamentos, quatro concentrações (1, 10, 100 e 1000 ppm) e cinco repetições, sendo cada repetição uma placa de Petri.

A avaliação foi realizada diariamente e terminou quando a

Tabela 1. Fungicidas testados quanto à eficiência *in vitro* no controle de *Amphobotrys ricini* Botucatu-SP.

Ingrediente ativo (i.a)	Grupo químico	Classe	Formulação	Concentração
Azoxystrobina	Estrobilurina	sistêmico	WG	500 g/Kg
Clorotalonil	Isoftalonitrila	contato	PM	750 g/Kg
Tiofanato metílico	Benzamidozóis	sistêmico	PM	700 g/Kg
Carbendazim	Benzamidazóis	sistêmico	SC	500 g/L
Tebuconazole	Triazóis	sistêmico	CE	200 g/L
Mancozeb	Ditiocarbamatos	contato	PM	800 g/Kg
Ipridione	Dicarboximida	contato	SC	500 g/L
Procimidone	Dicarboximida	sistêmico	PM	500 g/Kg
Carboxin + thiram	Carboxanilida + dimetiltiocarbamato	sistêmico + contato	SC	200 + 200 g/L

SC- suspensão concentrada; PM- pó molhável; CE- concentração emulsionável; WG- granulado

colonização do meio testemunha atingiu próximo ao diâmetro total das placas (8,5 cm), o que levou por volta de 11 dias. Com o auxílio de uma régua, mediram-se, em dois sentidos perpendiculares, os diâmetros da colônia de cada placa de Petri, com os respectivos produtos e concentrações, comparando-os ao crescimento médio das testemunhas. Assim, calculou-se o valor da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) (15).

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

Para a análise estatística, as médias dos dados foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Correlacionando a porcentagem de inibição com o logaritmo da concentração do fungicida, foi obtido, graficamente, o valor aproximado da dose efetiva mediana (ED_{50}) ou seja, a concentração do produto químico necessária pra inibir em 50% o crescimento micelial do fungo (7).

Após o cálculo da ED_{50} , os fungicidas foram classificados em quatro categorias de eficiência, segundo escala de Bollen & Fucks (2), Edgington et al. (7) e Kataria & Grover (10), em que:

- $ED_{50} < 1 \mu\text{L/L}$: altamente eficiente (AE);
- ED_{50} entre 1-10 $\mu\text{L/L}$: moderadamente eficiente (ME);
- ED_{50} entre 10-50 $\mu\text{L/L}$: pouco eficiente (PE);
- $ED_{50} > 50 \mu\text{L/L}$: ineficiente (I).

Efeito de diferentes tratamentos na severidade de *Amphobotrys ricini* versus mamoneira, em ensaio conduzido no campo

Com base nos resultados obtidos nas avaliações *in vitro*, os dois melhores tratamentos com óleos essenciais foram utilizados no campo. Para os fungicidas, apesar dos resultados diferirem quanto aos melhores produtos devido ao fato de ter ocorrido resultados diferentes para as avaliações de crescimento micelial e germinação de esporos, optou-se por utilizar os fungicidas iprodione e procimidone, por estes já serem empregados na cultura. Não houve diferenças significativas entre a cultivar AL Guarany e o híbrido Lyra, dessa maneira os materiais foram avaliados juntos.

O experimento foi conduzido na área pertencente ao Departamento de Recursos Naturais do Setor de Ciências Ambientais, da Fazenda Experimental Lageado, no município de Botucatu – SP. O delineamento experimental utilizado consistiu em blocos inteiramente casualizados num fatorial 6 X 2, correspondendo a seis tratamentos e dois genótipos + testemunhas, sendo quatro

blocos compostos por quatro plantas representando uma parcela de 2 m². A área apresentava dimensão de 24 m de comprimento e 8 m de largura, o espaçamento utilizado foi de 0,5 m entre plantas e 1 m entre linhas.

O material utilizado foi a cultivar AL-Guarany, e o Híbrido Lyra utilizados nos programas de melhoramento de mamona da Faculdade de Ciências Agrárias – UNESP, Campus de Botucatu – SP.

Os tratos culturais, adubação de plantio, cobertura, controle de plantas daninhas e pragas foram realizados nas épocas propícias. Os tratamentos adotados foram:

- Suspensão de *Clonostachys rosea* na concentração de 1×10^6 conídios.mL⁻¹;
- Suspensão de *Trichoderma harzianum* na forma do produto comercial Trichodermil, produzido pela empresa Itaforte S/A , utilizando-se a dosagem de 2 L.ha⁻¹;
- Óleo de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) na dosagem de 1000 uL/L de água;
- Óleo de palma-rosa (*Cymbopogon martini*) na dosagem de 1000 uL/L de água;
- Fungicida procimidone, na dosagem de 100g de i.a ou 200 mL de p.c./ 100 L de água;
- Fungicida iprodione, na dosagem de 100g de i.a ou 200 mL de p.c./100 L de água;
- Testemunha inoculada;
- Testemunha não inoculada.

Foram realizadas duas aplicações de cada um dos produtos dos tratamentos com intervalo de 1 semana entre as aplicações, sendo elas no início da formação dos frutos, com pulverizadores manuais. Uma semana após a segunda aplicação dos tratamentos, foi realizada uma inoculação de uma suspensão de esporos de 1×10^6 conídios/mL do isolado (L3) de *Amphobotrys ricini*, utilizando-se um pulverizador manual. Os racemos dos tratamentos e da testemunha inoculada foram envolvidos por sacos plásticos com algodão umedecidos e sacos de papel, durante 3 dias, agindo como uma câmara úmida, para favorecer o desenvolvimento do fungo. A testemunha não inoculada permaneceu envolvida por sacos de papel durante todo o experimento, evitando assim a possibilidade de receber inóculo.

A avaliação da severidade da doença do experimento foi realizada com a escala diagramática desenvolvida por Chagas et al. (5) durante 3 semanas. Os dados coletados foram submetidos a análise estatística e as médias dos dados comparadas entre si por meio do teste de Tukey a 5%.

RESULTADO E DISCUSSÕES

Avaliação *in vitro* do crescimento micelial do isolado de *Amphobotrys ricini*, utilizando diferentes concentrações óleos essenciais e fungicidas

Em certas concentrações, os óleos essenciais influenciaram o crescimento de *A. ricini*.

Na concentração de 1000 µL/L, os óleos das espécies *C. limon* (6,72 cm), *M. piperita* (4,43 cm) e *M. alternifolia* (4,40 cm) foram os que menos inibiram o crescimento do fungo, quando comparados com *E. citriodora* (2,01 cm), *A. indica* (2,5 cm), *Cinnamomum zeylanicum* (0,7 cm) e *C. martini* (0,7 cm).

Quando comparados na concentração de 2000 µL/L, os óleos de *C. martini* e *C. zeylanicum* mantiveram o efeito inibitório no crescimento micelial do fungo, apresentando para ambos valores de 0,7 cm. Os óleos de *E. citriodora* e *M. piperita* apresentaram uma redução no crescimento micelial de 0,92 cm e 3,66 cm respectivamente.

Aos 3000 µL/L, os óleos de *M. alternifolia*, *C. martini* e *C. zeylanicum* inibiram totalmente o crescimento micelial do fungo. Foram seguidos por *M. piperita* (0,76 cm) e *E. citriodora* (0,80 cm).

Na concentração de 4000 µL/L, verificou-se que o crescimento micelial foi de 1,99 cm para o óleo de *M. alternifolia*. Já o óleo de *C. limon* não apresentou inibição do fungo (5,77 cm) e os outros óleos apresentaram valores próximos. Na concentração de 5000 µL/L, o comportamento foi semelhante ao da concentração de 4000µL/L.

Esses resultados estão em conformidade com o trabalho de Souza et al. (27) que verificaram que *S. aromaticum* e *C. zeylanicum* foram eficientes na inibição micelial dos fungos *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Eurotium repens* e *Aspergillus niger*, nas concentrações de 200 e 800 µg/mL, e que o segundo óleo inibiu totalmente os fungos na primeira concentração. Outros trabalhos com óleo essencial de *C. zeylanicum* mostraram a eficiência em inibir outros fungos. Singh et al. (25) e Montes-Belmont & Carvajal (17) verificam inibição de *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. nidulans* e *A. flavus*. Resultados similares da ação inibitória de *C. zeylanicum* no crescimento micelial de *Alternaria solani* foram observados no trabalho de Abreu (1) em todas as concentrações utilizadas 250, 500, 750 e 1000 µL/L, bem como o efeito inferior do óleo essencial de limão (*Citrus limon*).

Quanto ao óleo de *C. martini*, os resultados encontrados neste trabalho também condizem com os encontrados por Abreu (1) e Singh et al. (24) quando constataram que esse óleo na concentração de 1% foi

eficiente contra *Helminthosporium oryzae*, do que fungicidas sintéticos. Neste trabalho verificou-se que *E. citriodora* também apresentou bom resultado, confirmando obtidos por Salgado et al. (21), os quais trabalharam com óleos essenciais de diferentes espécies de *Eucalyptus* e que apresentaram efeito fungistático na concentração de 500mg/Kg, *in vitro*, no controle de *Fusarium oxysporum* Schelecht., *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker e *Botrytis cinerea* Pers.

O que pode ser observado no presente trabalho, é que em todas as concentrações os óleos de *C. zeylanicum* e *C. martini* não permitiram o crescimento do fungo (Tabela 2). O óleo de *C. limon* não inibiu o crescimento do fungo, apresentando efeito contrário e favorecendo o crescimento quando comparado com a testemunha, crescendo em toda a área da placa no sexto dia de avaliação. Isto deve ter ocorrido, possivelmente devido a algum constituinte do óleo que possa ter favorecido esse rápido desenvolvimento. Em relação ao óleo de *C. limon*, este resultado está de acordo com o observado por Norman et al. (18) e McCalley & Torres-Grifol (15), que relataram a pouca eficiência na inibição de microorganismos, ou uma possível especificidade por algum fungo ou bactéria.

As porcentagens de inibição (PICs) dos nove fungicidas testados *in vitro*, a 1, 10 100 e 1000 µL/L, para o isolado de *A. ricini*, podem ser visualizadas na Tabela 3. Também foram obtidos através dos PICs, a diferentes concentrações, os respectivos ED₅₀ dos respectivos fungicidas (Tabela 4).

Para os fungicidas tebuconazole, carbendazim, tiofanato metílico e iprodione não foi possível estabelecer o ED₅₀, devido ao fato de que em todas as concentrações utilizadas houve inibição de 100% do crescimento micelial do fungo. Apenas pode-se afirmar que o ED₅₀ é menor que 1µL/L.

Os fungicidas azoxystrobina, mancozeb e carboxim + thiran foram considerados ineficientes (ED₅₀ > 50µL/L), diferente do que foi observado por Fischer (8), que trabalhou com o fungo *Nectria haematococca*. Já os fungicidas tiofanato metílico, carbendazim, tebuconazole, iprodione e procimidione foram altamente eficientes (ED₅₀ < 1µL/L).

Segundo Kimura (11), em seu trabalho ocorreu a insensibilidade do isolado de *Botrytis cinerea* ao fungicida tiofanato metílico, que confirma a ocorrência de resistência cruzada para esse grupo de fungicidas, com abundante desenvolvimento micelial na concentração de 1000 µL/L do fungicida no meio BDA, demonstrando alto nível de resistência. Porém, neste trabalho ocorreu o inverso, não houve crescimento

Tabela 2. Desenvolvimento de *Amphobotrys ricini* sob ação de diferentes óleos essenciais. Botucatu-SP, 2009.

Tratamentos	Concentrações (µL/L)				
	1000	2000	3000	4000	5000
	Diâmetro (cm)				
Testemunha	4,75Ba	4,72ABa	4,92Aa	4,91Aa	4,64Aa
<i>Cymbopogon martini</i>	0,7Da	0,7Ea	0,7Ca	0,7Ba	0,7Ba
<i>Melaleuca alternifolia</i>	4,4Ba	3,66BCa	0,7Cc	1,99Bb	1,03Bc
<i>Citrus limon</i>	6,72Aa	6,06Aa	5,9Aa	5,77Aa	6,05Aa
<i>Mentha piperita</i>	4,43Ba	2,44Db	0,76Cc	0,74Bc	0,76Bc
<i>Azadirachta indica</i>	2,5Cab	2,65CDa	2,06Bab	1,7Bbc	1,1Bc
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	0,7Da	0,7Ea	0,7Ca	0,7Ba	0,7Ba
<i>Eucalyptus citriodora</i>	2,01Ca	0,92Eb	0,8Cb	0,7Bb	0,7Bb
CV(%)	10,67				
dms	0,24				

Média seguida de letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Porcentagem de inibição de crescimento micelial (PICs) de *Amphobotrys ricini* em diferentes concentrações de fungicidas. Botucatu-SP.

Tratamentos	Concentração (µL/L)							
	1		10		100		1000	
	(PIC %)							
Azoxystrobina	43,20	B b	42,50	B b	53,40	B c	75,40	A b
Clorotalonil	5,00	B c	20,40	B c	100,00	A a	100,00	A a
Tiofanato metílico	100,00	A a	100,00	A a	100,00	A a	100,00	A a
Carbendazim	100,00	A a	100,00	A a	100,00	A a	100,00	A a
Tebuconazole	100,00	A a	100,00	A a	100,00	A a	100,00	A a
Mancozeb	24,00	C bc	9,20	C c	79,40	B ab	100,00	A a
Iprodione	100,00	A a	100,00	A a	100,00	A a	100,00	A a
Procimidone	89,50	A a	87,00	A a	100,00	A a	100,00	A a
Carboxin + Thiram	14,50	C c	15,20	C c	60,20	B bc	99,60	A a
CV(%)	13,44							
dms	10,49							

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Dose efetiva mediana (ED₅₀) de vários fungicidas relativos à inibição do crescimento micelial do isolado *Amphobotrys ricini* (L3). Botucatu-SP.

Tratamentos	ED50 dos fungicidas (µL/L)
Azoxystrobina	> 50
Clorotalonil	10 - 50
Tiofanato metílico *	< 1
Carbendazim *	< 1
Tebuconazole *	< 1
Mancozeb	> 50
Iprodione *	< 1
Procimidone	< 1
Carboxin +thiram	> 50

*tratamentos onde não foi possível elaborar a equação linear da reta (y=100), devido ao fato de que em todas as concentrações testadas houve 100% de inibição do crescimento micelial, sendo apenas estimado o valor do ED50.

micelial do isolado de *A. ricini* nas concentrações estudadas com o i.a. tiofanato metílico.

Para o fungicida azoxystrobin, do grupo das estrobilurinas, Caldari Júnior (4) encontrou grande variação no crescimento micelial de isolados provavelmente ainda não expostos a esse fungicida, no qual o ED₅₀ situou-se abaixo de 0,1 µL/L e para outros em 1000 µL/L, indicando que esse composto não tem nenhuma ou pouca influência no crescimento micelial *in vitro*, discordando também do conceito de resistência de fungos a fungicidas; Sendo o mesmo comportamento observado neste trabalho, onde o ED₅₀ foi maior que 50 µL/L. Vários trabalhos relatam a eficiência de fungicidas benzimidazóis (26) e dicarboximidas (14) contra *Botrytis cinerea*, o que foi confirmado também neste trabalho.

Efeito de diferentes tratamentos na severidade de *Amphobotrys ricini* versus mamoneira, em ensaio conduzido no campo.

Na primeira semana, o melhor tratamento foi a pulverização de iprodione com severidade de 4,31%, que não deferiu estatisticamente da testemunha não inoculada (0,00%), seguido do tratamento procimidone

(21,88%), a sequência continuou com o óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* (67,91%), suspensão de esporos de *Clonostachys rosea* a 1x10⁶ conídios/mL (71,56%), suspensão de *Trichoderma* sp (72,16%), óleo de *Cymbopogon martini* (82,94%), testemunha inoculada (89,91%) (Tabela 5 e Figura 1).

Na segunda semana a ordem da eficiência dos tratamentos quase não sofreu alteração, permanecendo o melhor tratamento a aplicação de iprodione (12,81%), que não diferiu estatisticamente da testemunha não inoculada, sendo seguida pelo tratamento de procimidone (60,16%). A alteração ocorreu em relação ao tratamento de óleo essencial de *C. zeylanicum* que mostrou maior severidade (91,09%) quando comparado com os tratamentos de *C. rosea* e de *Trichoderma* sp., cujas severidades foram, respectivamente, de 81,25% e de 92,34%, mas não houve diferença significativa entre esses tratamentos.

Não houve alteração muito grande da severidade da doença em função dos tratamentos na terceira semana. O tratamento cuja aplicação foi Iprodione permaneceu como sendo o melhor com valor de 30,16%, não diferindo da testemunha não inoculada (0,00%), seguida novamente pelo tratamento de procimidone (62,81%). Em relação aos demais tratamentos, os mesmos não mostraram diferenças significativas entre si, sendo os valores dos mesmos para *C. zeylanicum* (94,06%), *C. martini* com 99,68%, *C. rosea* 88,22% e 93,91% para *Trichoderma* sp..

O tratamento a base de iprodione apresentou diferença estatística quando comparado com os demais tratamentos. Os resultados obtidos com o tratamento *C. rosea* foram inferiores aos do melhor tratamento (iprodione), possivelmente pelo fato de tratar-se de um método biológico, e, também, devido a aplicação realizada uma vez por semana. Em testes para comparar a eficiência de *C. rosea* e do fungicida Captan na proteção das flores do morango - principal via de invasão do fruto pelo *B. cinerea*, o fungo (10⁶ esporos/mL) suprimiu a incidência de *B. cinerea* em estames de 93% para 79% e em frutos de 76% para 48%, uma performance igual ou melhor que outros antagonistas e o fungicida. O antagonista *C. rosea* foi mais eficaz que Captan contra *B. cinerea* em frutos de oito diferentes cultivares de morango. Os tratamentos foram aplicados aos vasos ao amanhecer e antes do anoitecer, baseados na conjectura que orvalho e escuro podem facilitar a sobrevivência e a atividade dos

Tabela 5. Avaliação da severidade de mofo-cinzeno em racemos de mamoneira durante 3 semanas, em função da aplicação de diferentes tratamentos no campo. Botucatu-SP.

Tratamentos	Severidade da doença (%)					
	semana 1		semana 2		semana3	
Testemunha inoculada	89,91	A a	98,13	A a	99,38	A a
Testemunha não inoculada	0,00	A d	0,00	A c	0,00	A c
Óleo essencial de palmarosa	82,94	B a	99,38	A a	99,68	A a
Óleo essencial de canela	67,91	B b	91,09	A a	94,06	A a
Suspensão de esporos <i>Clonostachys rosea</i>	71,56	A b	81,25	A a	88,22	A a
Suspensão de esporos de <i>Trichoderma</i> spp.	72,16	B b	92,34	A a	93,91	A a
iprodione	4,31	B d	12,81	B c	30,16	A c
procimidone	21,88	B c	60,16	A b	62,81	A b
CV(%)			39,72			
dms			12,13			

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Figura 1. Sintomas de mofo cinzeno causado pelo fungo *Amphobotrys ricini* em racemos de mamoneira.

organismos de biocontrole (28). Dessa forma, pelo menos duas aplicações semanais de *C. rosea* poderiam ser realizadas, ou até mesmo o uso associado às aplicações com o fungicida iprodione ou outro fungicida.

No trabalho desenvolvido por Lima & Soares (13), 15 cultivares de mamoneira foram avaliados quanto à resistência ao mofo-cinzeno. Uma das cultivares avaliadas foi a Guarani, que apresentou índice de doença na primeira e segunda avaliação de 40,83 % e 48,38%, respectivamente, sendo considerado com resistência moderada ao *A. ricini*. Na avaliação da intensidade da doença em cinco cultivares de mamoneira (Guarany, AL Guarany 2002, Mirante 10, híbrido Lyra e híbrido 2), sob diferentes arranjos populacionais, foi observado que todas as cultivares comportaram-se como suscetíveis, com variação de incidência de frutos infectados de 25% (AL Guarany) a 48 % (Guarany). Resultados similares foram encontrados por Rego Filho et al. (20), onde a cultivar AL Guarany não diferiu estatisticamente do híbrido Lyra, apresentando incidência de mofo cinzeno de 20,00% e 25,50%, respectivamente.

Vários são os fatores envolvidos nos resultados. Do ponto de vista genético não podem ser esquecidos que genótipos cujas cápsulas possuem poucos acúleos são mais resistentes ao ataque do mofo cinzeno, enquanto que aqueles com cápsulas com muitos acúleos comportaram-se como os mais suscetíveis ao patógeno, o que foi

comprovado por Lima & Soares (13). As dificuldades encontradas na obtenção de linhagens de mamoneira com resistência a *A. ricini* podem ser devidas à produção de enzimas hidrolíticas, possivelmente enzimas pécticas e celulolíticas, que decompõem os tecidos dos frutos infectados (29), bem como devido a maior quantidade de açúcares solúveis presente nas cápsulas de mamoneira suscetíveis (19). Portanto, em estudos seguintes visando à obtenção de cultivares de mamoneira com certo nível de resistência a *A. ricini*, faz-se necessário investigar com maior detalhamento as características morfológicas, os teores de açúcares solúveis da planta e a produção de enzimas hidrolíticas por este patógeno.

Dessa maneira, vários são os fatores que devem ser levados em consideração no que diz respeito ao controle do mofo-cinzeno da mamoneira, um trabalho conjunto visando métodos de controle tanto químicos, quanto alternativos e a busca por materiais com níveis de resistência genética aceitáveis.

Quanto a inibição do crescimento micelial de *A. ricini*, os melhores tratamentos com os óleos essenciais foram os com *C. martini* e *C. zeylanicum* em todas as concentrações testadas, enquanto que com os fungicidas, em todas as concentrações testadas os melhores foram os ingredientes ativos tiofanato metílico, carbendazin, tebuconazole e iprodione.

No campo, o tratamento com o fungicida iprodione (Rovral) foi

o melhor quanto ao controle da doença quando comparados com os tratamentos biológico e alternativo (óleos essenciais).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abreu, C. L. M. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. 2006. 71f. Tese (Doutorado em Agronomia / Horticultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
2. Bollen, J.; Fucks, A. On the specificity of the *in vitro* and *in vivo* antifungal activity of benomyl. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v.76, p.299-313,1970.
3. Brent, K.J. **Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed**. Brussels: Global Crop Protection Federation, 1995. 48p.
4. Caldari Júnior, P. Caracterização morfológica, esporulação e sensibilidade a fungicidas de isolados de *Botrytis cinerea* de flores e plantas ornamentais. 1998. 51f. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitopatologia)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
5. Chagas, H. A.; Basseto, M. A.; Rosa, D. D.; Furtado, E. L.; Zanotto, M. D. Escala diagramática para avaliação de mofo cinzento (*Amphobotrya ricini*) da mamoneira (*Ricinus communis* L.). **Summa Phytopathológica**, Botucatu, v.36, n.2, p. 164-167. 2010.
6. Chierice, G.O.; Claro Neto, S. Aplicação Industrial do óleo. In: Azevedo, D.M.P. de; Lima, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 89-120.
7. Edington, L.V.; Khen, K.L.; Barron, G.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, Saint Paul, v.61, p.42-44, 1971.
8. Fisher, I. H. **Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da “morte prematura” do maracujazeiro, causada por *Nectria haematococca* e *Phytophthora parasítica***. 2003. 48f. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitopatologia)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
9. Fornazieri Junior, A. **Mamona: uma rica fonte de óleo e de divisas**. São Paulo: Ícone, 1986. 72 p.
10. Kataria, H.R.; Grover, R.K. Comparison of fungicides for the control of *Rhizoctonia solani* causing damping-off of mung bean (*Phaseolus aureus*). **Annual Applied Biology**, Cambera, v. 88, p.257-263, 1978.
11. Kimura, M.K. **Sensibilidade *in vitro* de *Botrytis cinerea* a fungicidas**. 1999. 132f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
12. Lima, E.F.; Araújo, A.E.; Batista, F.A.S. Doenças e seu controle. In: Azevedo, D.M.P. de; Lima, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 191-212.
13. Lima, E.F.; Soares, J.J. Resistência de cultivares da mamoneira ao mofo cinzento causado por *Botrytis ricini*. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 15, n.1, p.96-97,1990.
14. Lorenz, G. Dicarboximide fungicides: history of resistance development and monitoring methods. In: DELP, C.J. **Fungicide resistance in North America**. 2. ed. Saint Paul: APS Press, 1994. cap.4, p. 45-51.
15. Mccalley, D.; Torres-Grifol, J. F. Analysis of volatiles in good and bad conditions by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. **Analyst**, Washington, DC: v. 117, p. 721-725, 1992.
16. Menten, J.O.M.; Minussi, C.C.; Castro, C.; Kimati, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. “*in vitro*”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília D.F., v. 1, n. 2, p. 57-66, 1976.
17. Montes-Belmont, R.; Carvajal, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. **Journal of Food Protection**, Annes, v. 61, p. 616-619, 1998.
18. Norman, S.; Craft, C. C.; Davis, P. L. Volatiles from injured and uninjured Valencia oranges at different temperatures. **Journal Food Science**, Chicago, v. 32, p. 656-659, 1967.
19. Orellana, R.G.; Thomas, C.A. Nature of predisposition of castorbeans to *Botrytis*.I. Relation of leachable sugar and certain other biochemical constituents of the capsule to varietal susceptibility. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 52, p. 533-538, 1962.
20. Rêgo Filho, L. M.; Bezerra Neto, F. V.; Santos, Z. M. Avaliação da incidência de mofo cinzento em genótipos de mamoneira no período outono-inverno em Campos dos Goytacazes – RJ. In: Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel. 4, 2007, Varginha – MG. Anais. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2007. 1 CD-ROM.
21. Salgado, A.P.S.P.; Cardoso, M.G.; Souza, P.E.; Souza, J.A.; Abreu, C.M.P.; Pinto, J.E.B.P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de Eucalyptus sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 27, n.2, p. 249-254, 2003.
22. Savy Filho, A. Melhoria da mamona. In: BOREM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Editora UFV, 1999. p. 383-407.
23. Schwan-Estrada, K. R. F.; Stangarlin, J. R.; Cruz, M. E. da S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1/2, p. 129-137, 2000.
24. Singh, R. S.; Pathak, M. G.; Bodoli, D. W. Response of Java citronella cultivars to nitrogen under Jorhat conditions. **Indian Perfumer**, Kampur, v. 24, n. 4, p. 192- 198, 1980.
25. Singh, H. B. et al. Cinnamon bark oil, a potent fungitoxicant against fungi causing respiratory tract mycoses. **Allergy**, Copenhagen, v.50 p. 995-999, 1995.
26. Smith C.M. Benzimidazole fungicides. In: DELP, C.J. (Ed.) **Fungicide Resistencia in North America**. 2. ed. St. Paul: APS Press, 1994. cap.3, p. 23-44.
27. Souza, S. M. C. et al. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 685-690, maio/jun., 2004.
28. Sutton, J.C.; Li, De-Wei; Peng, G.; Yu, H.; Zhang, P.; Valdebenito Sanhueza, R.M. *Gliocladium roseum*: a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 81, p. 316-328, 1997.
29. Thomas, C.A.; Orellana, R.G. Biochemical tests indicative of reaction of castor bean to *Botrytis*. **Science**, Washington, DC: v. 139, p. 334-335, 1963.
30. Weindling, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 22, p. 837-845. 1932.