

INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE *Penicillium expansum* (Link) Thom. POR FUNGICIDAS, *IN VITRO*¹

IN VITRO DEVELOPMENT INHIBITION OF *Penicillium expansum* (Link) Thom. BY FUNGICIDES

Ivan Francisco Dressler da Costa² Peri Veiga³

RESUMO

Para avaliar a eficiência de quatro fungicidas sobre a inibição do desenvolvimento de *Penicillium expansum*, foi desenvolvido um experimento em laboratório na Universidade Federal de Santa Maria, RS, durante o ano de 1992. Foram testados os princípios ativos Tiabendazole, Tiofanato Metílico, Iprodione e Imazalil, em cinco concentrações sobre dois isolados do fungo, sendo um resistente e outro sensível aos benzimidazóis. Foram testadas as concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0 µg/ml dos princípios ativos, e as avaliações foram realizadas com 0; 48; 96, 144 e 192 horas após as repicagens. Os resultados demonstraram que não houve diferença na inibição do desenvolvimento entre os fungicidas sobre o isolado sensível, porém ocorreu diferença entre os produtos para o isolado resistente, sendo o Tiabendazole e o Tiofanato Metílico os que apresentaram a menor eficiência. O Iprodione mostrou-se eficiente sobre os dois isolados e, o Imazalil inibiu completamente o desenvolvimento do fungo nas concentrações de 5,0 e 10,0 µg/ml até as 192 horas.

Palavras-chave: benzimidazóis, mofo azul, controle químico.

SUMMARY

This experiment was conducted to evaluate the efficiency of four fungicides in the development inhibition of *Penicillium expansum*. A laboratory experiment was carried out in 1993, at Federal University of Santa Maria, RS. The fungicides Thiabendazol, Methyl Tiophanate, Iprodione and Imazalil, in five concentrations of active ingredients (0.1; 0.5; 1.0; 5.0 and

10.0 µg/ml) on two isolates of the fungus were tested. The diameters of pathogen colonies were measured at 0; 48; 96, 144 and 192 hours after pathogen plating. There were no statistical differences in the inhibitions of benzimidazols compounds to sensible isolate among fungicides. There were significant difference for the resistant isolate, with less efficiency for Thiabendazol and Methyl Tiophanate fungicides. The Iprodione showed efficiency on the two isolates, and only Imazalil demonstrated complete inhibition of *Penicillium expansum* colonies, with 5.0 and 10.0 µg/ml concentration at a time of 192 hours, after pathogen plating.

Key words: benzimidazols, blue mold, chemical control.

INTRODUÇÃO

Atualmente um dos principais problemas na cultura da macieira diz respeito a perda de frutas em armazenamento, sendo que aqueles devem-se, principalmente, a fatores fisiológicos ou a microorganismos presentes e adaptados às condições de câmaras frigoríficas. Dentre estes microorganismos, destaca-se *Penicillium expansum* (Link) Thom., causador do mofo azul da maçã. Este fungo encontra-se disseminado em todas as regiões produtoras de maçã no Brasil (BLEICHER & BERNARDI, 1985; FORTES, 1985a), causando perdas das frutas armazenadas que podem

¹Parte da Dissertação de Mestrado apresentada pelo primeiro autor para obtenção do grau de Mestre em Agronomia na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

²Engenheiro Agônomo, MsC, Professor, Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais (CCR), UFSM, 97119-900, Santa Maria, RS. Autor para correspondência.

³Engenheiro Agrônomo, MsC, Professor Titular, Departamento de Defesa Fitossanitária, CCR, UFSM.

chegar até a 30% (VALDEBENITO-SANHUEZA, 1991).

Para o controle de *Penicillium expansum*, são recomendadas várias medidas, dentre as quais, pode-se destacar desinfestação de câmaras e embalagens, visando diminuir o potencial de inóculo. Os tratamentos de pós-colheita visam eliminação do fungo antes da frigorificação, ou durante esta, procedimento que até pouco tempo era realizado com um único fungicida, o Tiabendazole, que devido ao uso constante e ao seu caráter sistêmico, induziu à resistência diversas raças de *Penicillium expansum* (FORTES, 1985b; MORALES-MUÑOZ, 1982). Novos produtos tem sido testados nas regiões produtoras para controlar este patógeno, entre os quais pode-se destacar o Etaconazole, Procloraz, Carbendazim, Vinclozolina, Iprodione e Imazalil, porém estes produtos não estão registrados para a cultura, ou possuem problemas com resíduos nas frutas (KAUL, 1982; BLEICHER, 1982; PALAZÓN, 1983; CHIB et al., 1985; PRUSKY et al., 1985; PENROSE et al., 1989).

O fungicida Imazalil mostra-se potencialmente eficaz para controlar raças de *Penicillium expansum* tolerantes à benzimidazóis (McCORNACK et al., 1977), em baixas concentrações (WICKS, 1977). A eficiência do Imazalil e do Iprodione para controlar *Penicillium expansum* foi demonstrada por vários autores (SIEGEL & RAGSDALE, 1978; SIEGEL & SOLEL, 1981; VALDEBENITO-SANHUEZA, 1986; PENROSE et al., 1989; BRACKMANN et al., 1994), porém GULLINO & DE WAARD (1984), demonstraram que tanto o Iprodione quanto o Imazalil podem, também, induzir raças de *Penicillium expansum* à resistência. O presente trabalho teve como objetivos avaliar a eficiência de fungicidas no controle de *Penicillium expansum*, causador do mofo azul, em laboratório.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Fitopatologia, do Departamento de Defesa Fitossanitária, da Universidade Federal de Santa Maria, durante o primeiro e segundo semestres de 1992.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro fungicidas, em cinco concentrações com quatro repetições e sobre dois isolados de *Penicillium expansum*, sendo um resistente e outro sensível aos fungicidas do grupo benzimidazol. As unidades experimentais foram constituídas por placas de Petri, com diâmetro de 10

cm. As concentrações utilizadas foram 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0 µg/ml, dos fungicidas Imazalil, Iprodione, Tiofanato Metílico e Tiabendazole, e uma testemunha sem fungicida.

Os isolados foram obtidos junto a câmaras frigoríficas no município de Vacaria, RS, e também na EMBRAPA (Unidade Experimental de Vacaria). O inóculo para os testes foi desenvolvido em placas de Petri, sobre BDA (TUIITE, 1969), durante sete dias, à temperatura de 28°C e escuro constante.

Os fungicidas foram misturados ao meio de cultura antes deste solidificar, com o auxílio de uma micropipeta graduada, e após o inóculo foi transferido para as placas contendo BDA + fungicidas. Para as transferências foram utilizadas apenas as bordas das colônias, onde ainda não havia esporulação abundante. Realizou-se perfurações no meio de cultura com um cortador de rolha de diâmetro igual a 0,36cm, e estes discos de meio com micélio foram transferidos para as unidades experimentais. As avaliações foram realizadas com 0; 48; 96; 144 e 192 horas após as transferências do inóculo, medindo-se o diâmetro (em centímetros) das colônias desenvolvidas, no fundo das placas, com paquímetro. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação entre os efeitos dos fungicidas e das concentrações sobre a inibição do crescimento dos dois isolados de *Penicillium expansum* foi significativa, sendo que todos os fungicidas utilizados reduziram o crescimento das colônias do fungo. Com relação à eficiência dos produtos, comparados com a testemunha sem fungicida, apresentado na Tabela 1, a maior inibição de crescimento foi provocada pelo Imazalil, para os dois isolados. Em relação as doses utilizadas, Imazalil inibiu o desenvolvimento dos dois isolados em relação à testemunha, em todas as concentrações, porém, a partir de 5,0 µg/ml não houve crescimento das colônias. Estes resultados coincidem com aqueles encontrados por McCORNACK et al. (1977) e WICKS (1977).

O fungicida Iprodione não apresentou, em algumas doses, diferença dos produtos benzimidazóis, principalmente em relação ao isolado sensível à ação dos fungicidas deste grupo. Quanto as doses utilizadas, Iprodione foi diferente da testemunha em todas as concentrações utilizadas, sendo que o melhor efeito inibidor foi conseguido com 5,0 e 10,0 µg/ml do fungicida para o isolado sensível aos benzimidazóis, e nas concentrações de 1,0; 5,0 e 10,0 µg/ml para o isolado resistente.

Tabela 1. Efeito de concentrações de quatro ingredientes ativos, sobre o desenvolvimento do diâmetro de colônias (cm), de dois isolados de *Penicillium expansum*, *in vitro*, Santa Maria, RS, 1992.

Ingredientes ativos	Concentração de ingrediente ativo ($\mu\text{g/ml}$)				
	0,1	0,5	1,0	5,0	10,0
ISOLADO SENSÍVEL A BENZIMIDAZÓIS					
Imazalil	1,24 e*	0,92 e	0,52 e	0,36 e	0,36 e
Iprodione	1,75 b	1,04 bc	0,63 d	0,49 d	0,42 cd
Tiofanato metílico	1,61 d	1,05 b	0,71 bc	0,58 bc	0,43 bc
Tiabendazole	1,68 c	1,01 bcd	0,74 b	0,60 b	0,46 b
Testemunha	2,61a	2,61a	2,61a	2,61a	2,61a
CV(%)	1,68	3,42	2,87	1,67	2,38
ISOLADO RESISTENTE A BENZIMIDAZÓIS					
Imazalil	1,51 e	0,86 e	0,51 e	0,36 e	0,36 e
Iprodione	1,78 c	1,09 cd	0,62 d	0,47 d	0,43 d
Tiofanato metílico	1,69 cd	1,11 c	0,87 c	0,75 c	0,60 c
Tiabendazole	1,95 b	1,65 b	1,67 b	1,25 b	1,06 b
Testemunha	2,46a	2,46a	2,46a	2,46a	2,46a
CV(%)	3,41	5,89	2,29	6,87	2,52

* Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra, na vertical, diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5%.

Os fungicidas Tiofanato Metílico e Tiabendazole não diferiram na inibição do desenvolvimento das colônias do isolado sensível a produtos deste grupo, com exceção da dose de $0,1\mu\text{g/ml}$, enquanto que, para o isolado resistente houve diferença de inibição de crescimento entre estes dois produtos, sendo o Tiofanato Metílico mais eficiente que o Tiabendazole nas cinco doses utilizadas. Em relação às doses dos fungicidas, tanto Tiofanato Metílico quanto Tiabendazole apresentaram comportamentos semelhantes, para os dois isolados. Estes resultados eram esperados, uma vez que os produtos benzimidazóis, devido ao uso seguido e ao seu caráter sistêmico induzem raças de *Penicillium expansum* à resistência (FORTES, 1985; MORALES-MUÑOZ, 1982).

As estimativas dos contrastes entre as médias das concentrações, para cada fungicida, em relação aos isolados (Tabela 2), apresentam diferenças em todas elas para Tiofanato Metílico e Tiabendazole. Imazalil apresentou diferenças nas concentrações abaixo de $1,0\mu\text{g/ml}$, e Iprodione não apresentou efeitos de inibição entre os dois isolados.

Estes resultados demonstram a pouca eficiência que Tiofanato Metílico e o Tiabendazole apresentam para inibir o desenvolvimento de isolados de *Penicillium expansum* possuidores de resistência aos produtos do grupo benzimidazol, evidenciando a resistência cruzada. Sobre o isolado sensível, estes produtos foram mais eficientes, porém esta eficiência foi menor do que aquela proporcionada pelo Imazalil e pelo Iprodione. Estes dois produtos inibiram de maneira eficiente os dois isolados, sendo que o Imazalil inibiu completamente o desenvolvimento do patógeno nas concentrações de $5,0$ e $10,0\mu\text{g/ml}$. O Iprodione nestas mesmas condições permitiu o desenvolvimento do fungo, ainda que em pequena escala.

Tabela 2. Estimativa dos contrastes dos diâmetros de colônias (cm) entre os isolados de *Penicillium expansum*, um resistente e outro sensível à produtos do grupo benzimidazol, em relação às concentrações ($\mu\text{g/ml}$) de ingredientes ativos dos fungicidas utilizados.

Fungicidas	Concentrações de ingrediente ativo ($\mu\text{g/ml}$)				
	0,1	0,5	1,0	5,0	10,0
Imazalil	101,70*	5,07	0,00	0,00	0,00
Iprodione	1,26	3,62	0,14	0,56	0,14
Tiofanato metílico	9,01*	5,07*	36,06*	31,70*	27,61*
Tiabendazole	102,70*	577,06*	1218,51*	632,43*	887,57*
Testemunha	31,69*	31,69*	31,69*	31,69*	31,69*

* Significativo pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

Os fungicidas Tiabendazole e Tiofanato Metílico não possuem eficiência suficiente para inibir o desenvolvimento daquelas raças de *Penicillium expansum* que tornaram-se resistentes aos produtos benzimidazóis, sendo eficientes para inibir o crescimento apenas de raças sensíveis.

O fungicida Iprodione apresenta eficiência para inibir o crescimento dos isolados resistente e sensível, porém, ao contrário do Imazalil, permite o crescimento das colônias de *Penicillium expansum* nas concentrações entre 0,0 e 10,0 µg/ml.

O fungicida Imazalil inibe eficientemente o crescimento dos isolados resistente e sensível a benzimidazóis, sendo que em concentrações superiores a 5,0 µg/ml, inibe em 100% o desenvolvimento de *Penicillium expansum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLEICHER, J. Efeito de fungicidas sobre *Penicillium* sp. agente causal do bolor azul da maçã. *Fitopatol Bras*, Brasília, v. 7, p. 490, 1982.
- BLEICHER, J., BERNARDI, J. **Podridões da maçã e seu controle na pós-colheita**. Florianópolis: EMPASC, 1985. 24 p. (Boletim Técnico, 28).
- BRACKMANN, A., MAZARO, S.M., CECHINI, R. Efeito do pré-resfriamento e tratamentos pós-colheita sobre a qualidade de maçãs, cv. Golden Delicious e Fuji, durante o armazenamento em atmosfera normal e controlada. *Rev Bras Frut*, Caçador, v. 16 n.1, p. 07-14, 1994.
- CHIB, H.S., GUPTA, B.R., ANDOTRA, P.S., *et al.* Evaluation of some fungicides for the control of postharvest rots of apple through fungicidal dip in Kashmir. *J Mycol Plant Pathol*, Kashmir, v. 13, n. 3, p. 353 -354, 1985.
- FORTES, J.F. Microorganismos associados à podridão pós-colheita de maçãs no Rio Grande do Sul. *Fitopatol Bras*, Brasília, v. 10, p. 288, 1985a.
- FORTES, J.F. *Glomerella cingulata* e *Penicillium* sp.: surgimento de cepas resistentes ao Benomil. *Fitopatol Bras*, Brasília, v. 10, p. 280, 1985b.
- GULLINO, M.L., DE WAARD, M.A. Laboratory resistance to Dicarboximides and Ergosterol biosynthesis inhibitors in *Penicillium expansum*. *Nether J Pl Pathol Wageningen*, v. 90, p.177-179, 1984.
- KAUL, J.L. Comparative effectiveness of systemic fungicides for control of postharvest fungal rots of apples. *Phytopathol*, Kashmir, v. 35, n. 2, p. 315-316, 1982.
- McCORNACK, A.A, BROWN, G.E., SMOOT, J.J. R23979 - an experimental postharvest citrus fungicide with activity against benzimidazole-resistant *Penicilliums*. *Plant Dis Rep*, Beltsville, v. 61, n. 9, p. 788-791, 1977.
- MORALES-MUÑOZ, R. Razas tolerantes de *Penicillium expansum* (Link) Thom a Benomyl y Thiabendazol en plantas embaladoras de manzanas. *Semiente*, Santiago, v. 52 n. 3/4, p. 165-168, 1982.
- PALAZÓN, I.J. Problemática de las podredumbres de post-cosecha en manzanas y peras conservadas en cámara. IN: JORNADAS ABIERTAS DE FRIGOCONSERVACIÓN, 1983. Barcelona. *Anais...* p. 47-56.
- PENROSE, L.J. KOFFMANN, W., RIDINGS, H.I. Factors affecting the efficacy of post-harvest fungicide applications for the control of blue mold (*Penicillium expansum*) in stored apples. *Plant Pathol*, Harpenden, v. 38, p. 421-426, 1989.
- PRUSKY, D., BAZAK, M., BEN-ARIE, R. Development, persistence, survival and strategies for control of Thiabendazole-resistant strains of *Penicillium expansum* on pome fruits. *Phytopathol*, St. Paul, v. 75, n. 8, p. 877-882, 1985.
- SIEGEL, M.R., RAGSDALE, N.N. Antifungal mode of action of Imazalil. *Pest Biochem and Physiol*. v. 9, p. 48-56, 1978.
- SIEGEL, M.R., SOLEL, Z. Effects of Imazalil on a wild-type and fungicide strains of *Aspergillus nidulans*. *Pest Biochem and Physiol*, v. 15, p. 222-233, 1981.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Controle de *Penicillium expansum* Link resistente aos benzimidazóis em maçãs frigoconservadas. *Rev Bras Frutic*, Cruz das Almas, v. 8, n. 2, p. 31-34, 1986.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. **Desinfecção da água e das câmaras frigoríficas para diminuição do inóculo de *Penicillium expansum***. Pelotas: EMBRAPA-CNPFT., 1991. 16 p. (Boletim de Pesquisa).
- WICKS, T. Tolerance to benzimidazole fungicides in blue mold (*Penicillium expansum*) on pears. *Plant Dis Rep*, Beltsville, v. 61, p. 447-449, 1977.