

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CAMPUS CURITIBANOS CURSO DE CIÊNCIAS RURAIS

# JOSÉ LUIS FRANÇA PINTO RADUAN

# MÉTODOS DE CONTROLE QUÍMICO DA ANTRACNOSE ( Colletotrichum gloeosporioides) NA GOIABA-SERRANA (Acca sellowiana (berg) Burret ): AVALIAÇÃO "in vitro" E EM FRUTOS PÓS-COLHEITA

**CURITIBANOS** 

Novembro/2014

#### José Luis França Pinto Raduan

Métodos de controle químico da Antracnose (*Colletotrichum* gloeosporioides) na Goiaba-serrana (*Acca sellowiana* (berg) Burret ): Avaliação "in vitro" e em frutos pós-colheita

Projeto apresentado como exigência da disciplina de Projetos em Ciências Rurais, do curso de Ciências Rurais, ministrado pela Universidade Federal de Santa Catarina sob orientação dos Professores Lirio Luiz Dal Vesco e Adriana Terumi Itako.

**CURITIBANOS** 

Novembro/2014

#### **RESUMO**

A Acca sellowiana é uma espécie nativa da região sul do Brasil, porém em outros países recebe o nome popular de feijoa. O controle de doenças em frutos da goiaba-serrana é uma alternativa para sua comercialização, principalmente fora da região sul. seja mais viável tendo mais tempo antes que sua senescência ocorra. A utilização de protetores químicos nos frutos, com o objetivo de aumentar o período pós-colheita é uma opção para sua nacionalização e até sua comercialização para o exterior, contribuindo ainda como fonte de renda. Este trabalho tem por objetivo avaliar a eficiência dos princípios ativos vendidos no mercado, tiofanometílico e do trifloxistrobina+tebuconazol em diferentes doses, utilizados para espécie do Colletotrichum gloesporioides em outras culturas, tornando uma alternativa para que o produtor tenha um retorno satisfatório de sua produção. O experimento será em Delineamento em Blocos Casualisados (DBC), com cinco blocos, com sete tratamentos, cinco repetições e quatro amostras, os tratamentos serão T1- meio de cultura BDA, T2, T3 e T4 com diferentes doses de TRIFLOXISTROBINA+ TEBUCONAZOL e T5, T6 e T7 com diferentes doses de TIOFANO-METÍLICO, onde os tratamentos serão os mesmos para o experimento "in vitro" e para o fruto pós-colheita. Serão avaliados a porcentagem de inibição de crescimento, contagem de esporos e diâmetro de lesão nos frutos pós-colheita. As médias das amostras serão analisadas submetidas à análise de variância (ANOVA) e pelo teste de Tukey utilizando os softwares  $R_{x64 \ 3.1.0}$  e ASSISTAT.

Palavra-chave: feijoa; fungicida; tecobunazol; tiofano-metílico; trifloxistrobina;

## **SUMÁRIO**

1. INTRODUÇÃO	5
2. JUSTIFICATIVA	6
3. REVISAO DE LITERATURA	6
3.1. Histórico da goiaba-serrana	6
3.2. Antracnose	7
3.3. Controle da Antracnose	8
4. HIPOTESE	9
5. OBJETIVOS	9
5.1. Objetivo Geral	9
5.2. Objetivo Especifico	9
6. METODOLOGIA	10
6.1. Material Vegetal	10
6.2. Obtenção dos isolados	10
6.3. Testes de desenvolvimento <i>in vitro</i>	10
6.4. Avaliação de danos em frutos pós-colheita	11
6.5. Análise estatística	12
7. RESULTADOS ESPERADOS	12
8. CRONOGRAMA	13
9. ORÇAMENTO	13
10 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	14

#### 1. INTRODUÇÃO

A goiaba-serrana (*Acca sellowiana*) é uma espécie frutífera nativas do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Nordeste do Uruguai, suas características organolépticas vêm despertando grandes interesses no mercado. (FANTINEL, 2014)

A principal forma da goiaba-serrana se dá através de reprodução sexuada, ou seja, por sementes (SANTOS 2009). Mas segundo Ducroquet et al. (2000) sua reprodução ainda pode ser por enxertia, mergulhia de cepa, alporquia, estaquia e por micropropagação.

Espécie do gênero *Colletotrichum* é relatada em hortaliças solanáceas como pimenta, pimentao e jiló (TOZZE Jr. et al., 2006) e também em frutos como manga, mamão e abacate(KUROZAWA et.al., 1997) e também causando a queda prematura em espécies de citrus (GOES & KIMAYI, 1997)

Na *Acca sellowiana* o fungo *Colletotrichum gloeosporioide* pode causador da doença da Antracnose pode causar o tombamento de plântula, perda de grandes números de mudas, secamento parcial ou até total de ramos, até causando a morte de plantas adultas. Nos frutos pode danificar 100% dos frutos próximos da maturação e juvenis (ANDRADE; DUCROQUET, 1994; DUCROQUET et al., 2000).

O tiofano metílico, mancozeb, hidróxido de cobre e oxicloreto são fungicidas que são recomendados para a Antracnose da videira. (EMBRAPA, 2005) Os fungicidas cúpricos são recomendados para vários gêneros e espécies de patógenos, entre eles *Colletotrichum*.(SANTOS, sd.)

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o desempenho "in vitro" e pós-colheita do tiofano metílico e hidróxido de cobre sobre antracnose que ocorre em frutos da goiabaserrana.

#### 2. JUSTIFICATIVA

A goiaba-serrana tem um grande potencial no mercado devido suas características organolépticas, entretanto devido aos problemas relacionados ao controle de doenças na mesma, sua produção em grande escala é dificultada. Diminuindo as perdas qualitativas e quantitativas, os produtores terão mais recursos para investimentos na produção e consequentemente melhores produtos no mercado.

As perdas causam um grande prejuízo para o produtor, sendo que uma maneira de se evitar esse problema é a aplicação de controles químicos, físicos e biológicos de modo a se controlar o crescimento e a disseminação do fungo.

#### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Histórico da goiaba-serrana

A primeira coleta botânica foi feita por Frederich Sellow na região de Pelotas/RS em 1856, este material foi descrito por um alemão chamado Otto Berg que a enquadrou a goiabaserrana primeiramente como *Orthostemon sellowianus* (THORP; BIELESKI, 2002).

A *Feijoa sellowiana* (Berg) foi descrita e classificada no gênero feijoa devido a uma homenagem para João da Silva Feijó mas após estudos e comparação Burret realocou a *Feijoa sellowiana* no gênero *Acca* onde se havia semelhanças com outra espécie descrita (MORETTO, 2013).

Acca sellowiana (Berg) Burret é uma espécie que pertence a família das Myrtaceae que possuem uma ampla distribuição nas zonas tropicais e subtropicais, pertence a família das Myrtaceae, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Rosidae e Ordem Myrtales (CRONQUIST, 1981).

A goiaba-serrana é uma espécie frutífera nativas do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Nordeste do Uruguai, suas características organolépticas vêm despertando grandes interesses no mercado (FANTINEL, 2014).

A goiaba-serrana também é conhecida por goiaba-do-campo, goiaba-da-serra, goiabinha ou feijoa. No Uruguai se conhece por quirina, guayabo-verde ou guayabo-del-pais e na língua inglesa é conhecida como pineaplle-guava (DUCROQUET et al., 2000)

A principal forma de reprodução da goiaba-serrana se dá através de reprodução sexuada, ou seja, por sementes, quanto por foma assexuada como enxertia, mergulhia de cepa, alporquia, estaquia e por micro propagação (SANTOS, 2009; DUCROQUET et al., 2000).

Na *Acca sellowiana* o fungo *Colletotrichum gloeosporioide* pode causar tombamento de plântula, perda de grandes números de mudas, secamento parcial ate total de ramos, ate causar a morte de plantas adultas. Nos frutos pode danificar 100% dos frutos próximos da maturação e jovens (ANDRADE; DUCROQUET, 1994; DUCROQUET et al., 2000).

#### 3.2. Antracnose

A antracnose é a doença que mais tem sido relatada em mais de centenas de espécies, sendo assim uma das mais importantes para muitas culturas cultivadas (TOZZE Jr., 2006)

Os fungos associados ás sementes podem ser o transmissor do patógeno da semente para plântula e planta jovem interferindo na população de plantas e sua fisiologia. (CASA et al., 2006)

Há relatos que os fungos são transmissores de patógenos a parte aérea e radicular de plantas tendo o decréscimo na qualidade fisiológica e morte de plântulas. (TOZZE Jr. Et al., 2006)

O *Colletotrichum* sp. Tem sido um problema pós-colheita para goiaba (*Psidium guajava* L.) (FISHER et al.,2012).

Espécies do gênero Colletotrichum são relatados em hortaliças solanáceas como pimenta, pimentão, jiló, em frutos como manga, mamão, abacate e causando a queda

prematura em espécies de citrus ((TOZZE Jr. et al., 2006; KUROZAWA et.al., 1997; GOES et al., 1997).

Nos frutos os patógenos da antracnose se expressão após o amadurecimento do fruto e seus sintomas são pequenas manchas necroticas de cor marrom claras na casca dos frutos chegando ate 1,5 cm de diâmetro (FISHER et al.,2012).

Segundo Tozze Jr. et al. (2005) o crescimento do *Colletotrichum gloeosporioides* se aproximou dos 25-28°C para seu ótimo crescimento se comparado a outros do mesmo gênero.

O *Colletotrichum* em sua taxonômica está se utilizando sensibilidade a fungicidas para se auxiliar na caracterização para se souber a espécie de trabalho. (TOZZE Jr et al., 2005)

#### 3.3. Controle da Antracnose

O tratamento em sementes é uma boa alternativa para que se evite uma disseminação de patógenos para áreas isentas de qualquer patógeno indesejado (FANTINEL, 2014).

A doença da antracnose é transmitida por frutos, plântulas e sementes contaminadas, devesse obter propágulos isentos de patógenos.

Para o controle efetivo de patógenos se começa com a escolha de sementes, platulas de boa qualidade insenta de qualquer patógeno para que não haja infestação nos lugares onde são livres do patógeno. Os controles são classificados de três formas para serem feita, os controles químicos, físicos e biológicos. E são feitos de modo preventivos e se houver a infestação na cultura. (JUNQUEIRA; COSTA, 2002)

O tiofano-metilico, mancozeb, hidróxido de cobre e oxicloreto são alguns fungicidas que são recomendados para a Antracnose da videira. (EMBRAPA, 2005)

Segundo Fischer et al. (2012) em experimento o usou até 100mg i.a./L de água e não se obteve tanto efeito no *Colletotrichum gloeosporioides* pois possuíam uma resistência elevada ao trifloxistrobina+ tebuconazol quando testado e goiaba (*Psidium guajava*).

#### 4. HIPOTESE

O controle efetivo da antracnose se dará pelo controle químico (tiofano-metilico ou trifloxistrobina+ tebuconazol) sobre *Colletotrichum gloeosporiodes* em avaliação *in vitro* e em frutos inoculados.

#### 5. OBJETIVOS

#### 5.1. Objetivo Geral

Avaliar o desempenho do fungicida com princípio ativo tiofano metílico, que já é conhecido no mercado e que são efetivos para Antracnose de outras culturas e registrados no MAPA para a Antracnose da goiaba-serrana.

#### 5.2. Objetivo Especifico

Avaliar o desenvolvimento do *Colletotrichum gloesporiode* em diferentes concentrações dos fungicidas tiofano-metilico e trifloxistrobina+ tebuconazol.

Verificar o nível de danos do *Colletotrichum gloesporiodes* em frutos pós-colheita quando tratadas com diferentes concentrações em temperatura ambiente.

Testar a eficiência de tiofano-metilico e trifloxistrobina+ tebuconazol no controle do *Colletotrichum gloesporiodes* no cultivo "in vitro" e em frutos sob armazenamento.

#### 6. METODOLOGIA

#### **6.1. Material Vegetal**

Os frutos serão coletados de plantas matrizes, pertencentes à coleção de germoplasma da Empresa de Pesquisa Agropecuaria e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri São Joaquim) durante os meses de fevereiro a abril.

#### 6.2. Obtenção dos isolados

A parte laboratorial será realizado no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Catarina-SC, campus Curitibanos.

O isolamento do fungo será realizado através da obtenção de frutos doentes onde serão feito através de corte limítrofe entre a parte sadia e parte infectada dos frutos e colocados quatro fragmentos de aproximadamente 5mm por Placas de Petri, assim sendo realizado repicagem da colônia até se obter uma cultura pura.

A cultura pura será identificada através da literatura para ter certeza que possuímos o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*.

A manutenção do isolado será feito através da massa micelial proveniente de uma cultura pura para uma Placa de Petri com meio de cultura BDA, incubada em um BDO a 25°C.

#### 6.3. Testes de desenvolvimento in vitro

O delineamento experimental utilizado será o Delineamento em Blocos Casualisados (DBC) com cinco blocos, sete tratamentos, cinco repetições e quatro amostras.

Para o experimento *in vitro* os fungicidas serão misturado no meio de cultura sendo os tratamentos T1 testemunha em meio de cultura BDA, (T2, T3, T4) tratamento com

TRIFLOXISTROBINA+ TEBUCONAZOL com o equivalente a 30+60 mg. i.a/1L de água, 60+120 mg.i.a./1 L de água e 120+240 mg.i.a./1 L de água dos respectivos princípios ativos, (T5, T6, T7) tratamento com TIOFANO-METÍLICO com o equivalente a 250, 490 e 990 mg/1litros de água. Após o preparo das placa-de-Petri com 20 mL do meio de cultura com seu fungicida misturado, sendo para o experimento serão retirados fragmentos de 5mm das Placas de Petri com cultura pura do fungo *Colletotrichum gloesoporioides* para o emplacamento e analise do desenvolvimento micelial, e as placas-de-Petri serão mantidas em incubadora BOD a temperatura de 28°C.

As avaliações serão feitas diariamente e serão feitas médias entre duas medidas de diâmetro perpendicular, determinando-se a porcentagem de inibição do crescimento (PIC) dos tratamentos em relação à testemunha utilizando a seguinte fórmula, segundo Bastos, 1997.

$$PIC = \frac{\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}}{\text{diâmetro da testemunha}} * 100$$

onde: PIC= porcentagem de inibição do crescimento

Também será avaliado o numero de esporos com auxilio da câmara de Neubauer sendo feita a contagem com um microscópio óptico de luz, assim sendo possível fazer as analises estatísticas.

O experimento será conduzido até 80% da Placa de Petri estar tomada pelo crescimento micelial do fungo.

#### 6.4. Avaliação de danos em frutos pós-colheita

Para a avaliação dos fungicidas em frutos sadios, os frutos serão previamente lavados com álcool 70% e posteriormente com hipoclorito de sódio (1 a 2%) para que esteja livre de contaminantes para a inoculação do fungo.

A inoculação nos frutos será realizada com solução com os esporos na concentração de 10<sup>4</sup> esporos por mL de água, onde o fruto sofrerá um dano mecânico com a perfuração de uma agulha obtendo os esporos e borrifado a solução com o fungicida, a avaliação será a média de duas medidas perpendiculares de diâmetro do ferimento, conforme metodologia descrita por Rozwalka et al. 2008, com modificações.

Os frutos serão mantidos a temperatura ambiente e avaliados o diâmetro da mancha a cada dois dias até que na testemunha a lesão tome mais de 70% do fruto.

#### 6.5. Análise estatística

Os parâmetros de PIC, esporos e diâmetro de lesão obtida assim como suas médias serão submetidas à análise de variância (ANOVA) e pelo teste de Tukey, utilizando os softwares  $R_{x64\,3,1,0}$  e ASSISTAT.

#### 7. RESULTADOS ESPERADOS

O resultado esperado é determinar a dosagem do princípio ativo que apresente maior eficiência na inibição da antracnose.

Os resultados esperados são que os tratamentos com dosagens mais concentradas apresentem maior eficácia em relação às menos concentrados, para que se possam ter alternativas com eficiência cientificamente comprovada.

Para a indicação de algum produto terá que ser feito outros testes como o de resíduo que não serão feitos neste experimento, portanto não sendo indicado a recomendação.

#### 8. CRONOGRAMA

A tirrido do / Môa	2015								2016															
Atividade/ Mês	J	F	M	A	M	J	J	A	S	0	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	0	N	D
Coleta dos frutos		X	X	X										X	X	X								
Experimento laboratorial			X	X	X	X									X	X	X	X						
Análise dos dados					X	X	X										X	X	X					
Relatorio final																								X
Revisão de Literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

### 9. ORÇAMENTO

Materiais Permanentes									
Produto	Quantidade	Preço unidade	Total						
Autoclave	1	R\$ 4.500,00	R\$ 4.500,00						
Balança analitica	1	R\$ 3.500,00	R\$ 3.500,00						
Camara de fluxo laminar com luz UV	1	R\$ 11.000,00	R\$ 11.000,00						
Microscopio óptico	1	R\$ 15.000,00	R\$ 15.000,00						
Incubadora B.O.D.	1	R\$ 11.000,00	R\$ 11.000,00						
	R\$ 45.000,00								

Materiais de Consumo									
Produtos	Quantidade	Preço unidade	Total						
Placa de Petri	300	R\$ 6,00	R\$ 1.800,00						
Alça de platina	10	R\$ 120,00	R\$ 1.200,00						
Alça de drigalski	10	R\$ 7,50	R\$ 75,00						
Lamparina	10	R\$ 7,50	R\$ 75,00						
Elermenyer	10	R\$ 14,90	R\$ 149,00						
Balão volumétrico	10	R\$ 41,90	R\$ 419,00						
Espátula	10	R\$ 9,90	R\$ 99,00						
	Total		R\$ 3.817,00						

Reagentes										
Produto	Quantidade	Preço unidade	Total							
Meio de cultura BDA	4 Kg	R\$ 340,00	R\$ 1.360,00							
TIOFANO-METÍLICO (Cercobin 500)	5 Kg	R\$ 25,00	R\$ 125,00							
TRIFLOXISTROBINA + TEBUCONAZOL (NATIVO)	5 Kg	R\$ 67,00	R\$ 335,00							
Hipoclorito de sódio	5 L	R\$ 5,80	R\$ 29,00							
Ákool	5 L	R\$ 13,00	R\$ 65,00							
Total	R\$ 1.914,00									

#### 10. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

ANDRADE, E. R. de; DUCROQUET, J. P. H. J. Antracnose em goiabeira serrana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 15, n. 2, p. 7-10, 1993.

BASTOS, C.N. Efeito do óleo de Piper aduncum sobre Crinipelis e outros fungos fitopatogênicos. Fitopatologia Brasileira, v.22, n.3, p.441-3, 1997.

CASA, R.T.; REIS, E.M.; NERBASS, F.R. Implicações epidemiológicas da transmissão de fungos em sementes de milho. In: MANEJO de doenças de grandes culturas: feijão, batata, milho e sorgo. Lavras: UFLA, 2006. p. 202-212.

CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University, 1981.

DUCROQUET, J.P.H.J.; HICKEL, E.R.; NODARI, R.O. Goiabeira-serrana (*Feijoa sellowiana*). **Série Frutas nativas 5**. Jaboticabal: Funep, 2000.

FANTINEL, V.S. Fungos associados a sementes de goiaba-serrana: detecção, efeito na qualidade das sementes, transmissão para plântulas e controle. 2014 Lages Tese (Doutorado) Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2014.

FISCHER, I.H.; da SILVA, B.L.; SOARES, A.R.; de ARRUDA, M.C.; PARISI, M.C.M.; AMORIM, L. Efeito de fungicidas e produtos alternativos no controle da antracnose e da pinta preta da goiaba, **Semina: Ciência agraria**, Londrina, v33, suplemento 1, p.2753-2766, 2012.

GOES, A.; KIMATI, H. Caracterização morfológica de isolados de *Colletotrichum cutatum* e *Colletotrichum gloeosporioides* associados à queda prematura dos frutos cítricos. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.23, n.1, p.4-10, 1997.

JUNQUEIRA, N. T. V.; COSTA, H. Controle das doenças da goiabeira. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. Controle de doenças de plantas: fruteiras. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. v. 2, p. 1247-1277.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças das solanáceas. In: KIMATI,H.; AMORIM, L.; BERGAMIM Filho, A.; CAMARGO, L.E.A.; Rezende, J.A.M. **Manual de fitopatologia:** doenças das plantas cultivadas. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2., cap.62, p.665-675.

MORETTO, S. P. A domesticação e a introdução de uma espécie frutífera nativa do Sul do Brasil: apresentando feijoa (Acca sellowiana) In: Anais do II Congresso Internacional de Historia Regional, 2013.

NAVES, R.L.; TESSMANN, D.J.; GARRIDO, L.R.; SONEGO, O.R. Sistema de produção de uva de mesa no norte do Paraná. EMBRAPA uva e vinho, sistema de produção, v.10, Bento Gonçalves, 2005.

ROZWALKA, L.C.; LIMA, M.L.R.Z.D.C.; DE MIO, L.L.M; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. Ciência Rural. Santa Maria. v. 38. n.2. p. 301-307.

SANTOS, K. L. Diversidade cultural, genética e fenotípica da goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*): implicações para a domesticação da espécie. 2009. 163 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, 2009.

THORP, G.; BIELESKI, R. Feijoas, origins, cultivation and uses. Albany, NZ: D. Bateman, 2002.

TOZZE Jr., H.J.; MELLO, M.B.A.; MASSOLA Jr., N.S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 1, p. 71-79, 2006.