

## DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE BIOENSAIO DE AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE *Bipolaris sorokiniana*, AGENTE CAUSAL DA MANCHA MARROM DA CEVADA, À FUNGICIDAS

Mariana Piva Castilho (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Dauri José Tessmann (Orientador), Paula Cristina Dos Santos Rodrigues (Coorientadora), e-mail: djtessmann@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/ Centro de Ciências Agrárias, Maringá, PR.

### Ciências Agrárias I - Fitopatologia

**Palavras-chave:** Fungo fitopatogênico; resistência; controle.

### RESUMO

A mancha marrom, causada pelo fungo *Bipolaris sorokiniana*, é uma das principais doenças que afetam a cevada (*Hordeum vulgare*) no Brasil. Devido à falta de cultivares resistentes e à baixa eficácia dos métodos culturais, o controle químico com fungicidas é o principal método utilizado. No entanto, o uso contínuo de fungicidas com os mesmos mecanismos de ação pode levar a seleção de linhagens menos sensíveis e até resistentes. O objetivo deste projeto foi desenvolver e validar um protocolo para testar a sensibilidade de isolados de *B. sorokiniana* a fungicidas *in vitro*, baseando-se no crescimento micelial em meio de cultura. Foram testadas diferentes concentrações dos fungicidas ciproconazol, tebuconazol e propiconazol, do grupo de inibidores da desmetilação (DMI) em meio de cultura Yeast Extract Agar (YEA), nas concentrações de 0, 1, 5, 10, 30 e 50 ppm. O experimento foi realizado com delineamento causalizado com três repetições e dez isolados de *B. sorokiniana* foram analisados para cada ingrediente ativo de fungicida. Após sete dias de incubação a  $22 \pm 2$  °C, o diâmetro das colônias foi medido e os dados foram analisados por regressão pelo modelo não linear log-logístico com quatro parâmetros (LL.4) para determinar a concentração inibitória de 50% do crescimento micelial ( $CI_{50}$ ). Os resultados mostraram que os isolados do estudo são classificados como moderadamente e altamente sensível aos ingredientes ativos analisados. Além disso o trabalho validou um protocolo de *Bipolaris sorokiniana* para avaliação da sensibilidade a fungicidas por crescimento micelial.

## INTRODUÇÃO

A mancha marrom, causada pelo fungo *Bipolaris sorokiniana*, é uma doença significativa que afeta folhas, colmos e espigas da cevada (*Hordeum vulgare*). Esta infecção gera manchas necróticas, resultando em uma redução da área fotossintética. Além disso, compromete a qualidade das sementes, afetando negativamente a produção de malte (Reunião..., 2022).

Para o controle da doença, são utilizados fungicidas, principalmente dos grupos triazóis (inibidores da desmetilação - DMI), estrobilurinas (inibidores da quinona externa - QoI) e, ocasionalmente, misturas com carboxamidas (inibidores da succinato desidrogenase - SDHI) (Reunião..., 2022). No entanto, o uso contínuo desses fungicidas pode levar à seleção de linhagens de *Bipolaris sorokiniana* com menor sensibilidade ou resistência, um problema já observado com fungicidas DMI no sul do Brasil (Stolte, 2006).

O objetivo deste trabalho foi validar um protocolo para a avaliação in vitro da sensibilidade de isolados de *B. sorokiniana* a fungicidas, analisando o efeito de diferentes concentrações desses produtos na redução do crescimento micelial do patógeno.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da UEM utilizando dez isolados de *B. sorokiniana* originados da coleção de fungos. Inicialmente, os fungos foram cultivados por sete dias em placas de Petri de 90 mm de diâmetro meio de cultura Oat Meal Agar (OMA - 30 g farinha de aveia [cozida e filtrada] e 15g ágar em 1000 ml de água). A quantidade do meio em cada placa foi de 15 ml, e as placas inoculadas foram mantidas na temperatura de  $20 \pm 2$  °C sob um ciclo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Após o cultivo inicial, um plug de micélio de 4 mm de diâmetro foi retirado da extremidade das colônias e transferido para o centro de novas placas de Petri contendo Yeast Extract Agar (YEA - 3g extrato de levedura, 5g peptona bacteriológica e 15g ágar em 1000 ml de água) e diferentes concentrações de fungicidas.

Os fungicidas utilizados pertencem ao grupo químico dos inibidores da desmetilação (DMI), especificamente ciproconazole, propiconazole e tebuconazole, nas concentrações de 0, 1, 5, 10, 30 e 50 ppm. Esses fungicidas foram solubilizados previamente em água destilada estéril e, em seguida, adicionados ao meio YEA autoclavado após atingir temperaturas entre 45°C e 48°C, para garantir as concentrações de ingrediente ativo desejadas. O meio YEA, já misturado com os fungicidas, foi distribuído em placas de Petri, utilizando 15 ml por placa. No centro de

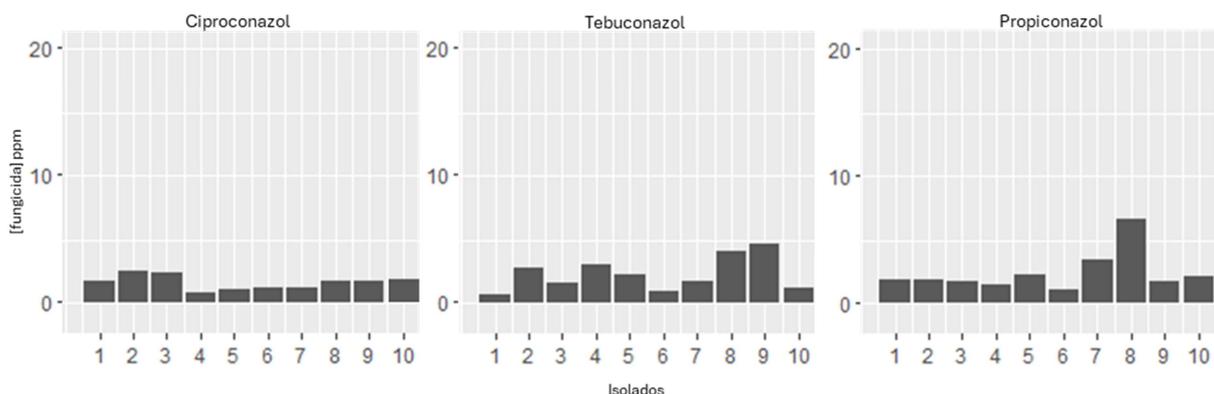
cada placa, foi depositado um disco de micélio de 4 mm de diâmetro, retirado dos isolados que haviam sido cultivados em meio OMA.

As placas de controle receberam discos de micélio em meio YEA sem fungicida. Todas as placas foram incubadas em uma câmara de crescimento a  $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , em um ciclo de 24 horas de escuridão, durante sete dias. Após esse período, o diâmetro médio das colônias foi medido manualmente com um escalímetro para determinar o crescimento em diferentes tratamentos e no controle. O experimento foi estruturado segundo um delineamento inteiramente casualizado com três repetições, cada uma representada por uma placa de Petri.

Os valores de  $CI_{50}$  para os testes de sensibilidade a fungicida foram determinados usando os pacotes `drc` e `ec50estimator` com software R versão 4.1.3 (R Core Team 2024). Após um procedimento de seleção de modelo baseado no critério de informação de Akaike (AIC) selecionou-se o modelo não linear log-logístico com quatro parâmetros (LL.4) para gerar a curva dose-resposta do fungicida. Para determinação da resistência ou sensibilidade dos isolados utilizou-se a escala de Dominguez et al. (2021): Totalmente insensível ( $CI_{50} > 40 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), não sensível ( $CI_{50}$  entre 10 e  $40 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), moderadamente sensível ( $CI_{50}$  entre 1 e  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e altamente sensíveis ( $CI_{50} < 1 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da  $CI_{50}$  dos ensaios de sensibilidade de *B. sorokiniana* a ciproconazol, tebuconazol e propiconazol por crescimento micelial (Figura 1) classificou os 10 isolados do estudo como moderadamente sensíveis e altamente sensíveis, de acordo com a classificação de Dominguez et al. (2021).



**Figura 1** – Concentração inibitória de 50% do crescimento micelial de dez isolados de *Bipolaris sorokiniana* aos fungicidas do grupo dos triazóis ciproconazol, tebuconazol e propiconazol.

Os resultados mostram a eficácia dos fungicidas ciproconazol, tebuconazol e propiconazol no controle de *B. sorokiniana*. No entanto, é importante ressaltar que o uso contínuo desses ingredientes ativos, que pertencem ao mesmo grupo químico, pode selecionar linhagens menos sensíveis ou até resistentes. Portanto, é essencial rotacionar os grupos químicos e ingredientes ativos para o controle da mancha marrom da cevada.

## CONCLUSÕES

O presente estudo validou um protocolo de *Bipolaris sorokiniana* para avaliação da sensibilidade a fungicidas por crescimento micelial. Além disso, mostrou o controle eficiente dos isolados do estudo classificando-os como moderadamente a altamente sensível aos triazóis ciproconazol, tebuconazol e propiconazol.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela bolsa contemplada.

## REFERÊNCIAS

R CORE TEAM (2024) R: A language and environment for statistical computing, Vienna. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acessado 4 de março de 2024.

REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 33. Indicações técnicas para a produção de cevada cervejeira nas safras 2023 e 2024. 2022, Passo Fundo, RS.

STOLTE, R. E. **Sensibilidade de *Bipolaris sorokiniana* e de *Drechslera tritici-repentis* a fungicidas' in vitro'**. Universidade de Passo Fundo (Programa de Pós-Graduação em Agronomia). Dissertação de Mestrado. 92.p. 2006.

DOMINGUEZ, J. A.; SAUTUA, F. J.; CARMONA, M. A. Sensitivity of *Bipolaris sorokiniana* to strobilurin, triazole, and carboxamide premixes. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, v. 54, n. 19-20, p. 1764-1777, 2021.