



Revista
Técnico-Científica



AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Penicillium* sp. SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FUNGICIDAS

José Roberto Chaves Neto¹; Ricardo Boscaini²; Renato Carnellosso Guerra³; Nívea Raquel Ledur⁴; Ivan Francisco Dressler da Costa⁵

¹Engenheiro Agrônomo, Doutorando em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Santa Maria/UFSM, Campus de Santa Maria; Prédio 42 – 1º andar, Cep: 97.105-900, Camobi, Santa Maria, RS. E-mail: jose.chavesneto@gmail.com.

²Mestrando em Engenharia Agrícola-UFSM, Campus de Santa Maria. ³Engenheiro Agrônomo, Mestre em Agronomia pela UFSM, Campus Santa Maria. ⁴Engenheira Agrônoma pela UFSM, Campus Santa Maria. ⁵Docente da Universidade Federal de Santa Maria/UFSM, campus Santa Maria

RESUMO - Este trabalho teve como objetivo de avaliar a sensibilidade *in vitro* de fungos do gênero *Penicillium* sp. a diferentes fungicidas sobre a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) e o índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM). A sensibilidade dos fungos foi testada para os seguintes fungicidas: i) Epoxiconazol + Piraclostrobina, ii) Ciproconazol + Picoxistrobina, iii) Fluxapiróxade + Piraclostrobina, nas concentrações de 10, 50, 100, 500, 1000 ppm, além da concentração 0 (sem uso de fungicida). O experimento foi inteiramente casualizado, em fatorial representado por: fator concentração e fator tipo de fungicidas, com quatro repetições. Observou-se para PICM e IVCM do fungo *Penicillium* sp. diferença significativa quanto ao fator fungicida e a concentração utilizada, assim como para a interação entre estes fatores. O IVCM dos fungos do gênero *Penicillium* sp., de modo geral foi inversamente proporcional à concentração dos fungicidas utilizadas, isto é, quanto maior a concentração do fungicida, menor o crescimento do fungo. Os fungicidas que resultaram em maior inibição de crescimento micelial *in vitro* foram os que apresentaram em sua formulação princípios ativos pertencentes ao grupo químico das estrobilurinas. Sendo os fungicidas Epoxiconazol + Piraclostrobina e Fluxapiróxade + Piraclostrobina os mais eficazes por proporcionarem maior inibição do crescimento micelial, com porcentagens variando entre 60 e 70%. De modo geral, ocorreu redução do índice de velocidade média de crescimento micelial do fungo *Penicillium* sp. em paralelo ao aumento das concentrações dos fungicidas.

Palavras-chave: estrobilurinas, sensibilidade a fungicida, triazóis.

IN VITRO EVALUATION OF MYCELIAL GROWTH OF *Penicillium* sp. UNDER DIFFERENT CONCENTRATIONS OF FUNGICIDES

ABSTRACT - This work aimed to evaluate the *in vitro* sensitivity of fungi of the genus *Penicillium* sp. to different fungicides on percentage of mycelial growth inhibition (PICM) and mycelial growth rate index (IVCM). The fungus sensitivity was tested for the following fungicides: i) Epoxiconazole + Piraclostrobin, ii) Cyproconazole + Picoxystrobin, iii) Fluxapiróxade + Piraclostrobinal, at concentrations of 10, 50, 100,

500, 1000 ppm, as well as concentration 0 (no use of fungicide). The experiment was completely randomized, in factorial represented by: concentration factor and type factor of fungicides, with four replicates. It was observed for PICM and IVCM of the fungus *Penicillium* sp. significant difference in the fungicide factor and the concentration used, as well as in the interaction between these factors. The IVCM of fungi of the genus *Penicillium* sp. Was generally inversely proportional to the concentration of the fungicides used, that is, the higher the fungicide concentration, the lower the fungus growth. The fungicides that resulted in greater inhibition of mycelial growth *in vitro* were those that presented in their formulation active principles belonging to the chemical group of strobilurins. The fungicides Epoxiconazole + Piraclostrobin and Fluxapiroxade + Piraclostrobina are the most effective because they provide greater inhibition of mycelial growth, with percentages varying between 60 and 70 %. In general, the mean velocity index of mycelial growth of the fungus *Penicillium* sp. in parallel with the increased concentrations of fungicides.

Keywords: sensitivity to fungicide, strobilurins, triazoles.

INTRODUÇÃO

Algumas espécies de fungos do gênero *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp., causam em condições de campo podridão da espiga, produção de grãos ardidos e de micotoxinas, estas espécies de fungos são denominadas toxigênicas (PINTO, 2005; MARQUES, et al., 2009). De acordo com Pinto (2005) estes fungos toxigênicos, quando colonizam os grãos de milho em pré-colheita, podem biossintetizar micotoxinas, as quais são altamente nocivas à saúde animal e humana.

A aplicação foliar de fungicidas é uma das principais estratégias de controle das podridões de grãos e espiga (CASA et al., 2006). A eficácia do controle químico está relacionada tanto com a facilidade de aplicação como também aos resultados rápidos, o que justifica a difundida utilização destes produtos por parte da maioria dos produtores nas últimas décadas (GHINI; KIMATI, 2000; LOPES et al., 2015).

O uso indiscriminado de defensivos agrícolas no controle de doenças de plantas pode causar sérios riscos à saúde humana e contaminação do meio ambiente, além dos possíveis problemas de resistência de fitopatógenos. A resistência relativa dos fungos ao fungicida é proporcional à especificidade do modo de ação do fungicida, sendo os fungicidas sistêmicos, que são tidos como mais específicos e seletivos, os que apresentam maior predisposição a resistência (REIS; FORCELINI, 1993; GHINI; KIMATI, 2000; CITADIN, et al., 2005).

A fungitoxicidade de um determinado fungicida caracteriza-se pela toxicidade de determinada substância presente nele em baixas concentrações frente aos fungos, reduzindo ou inibindo o desenvolvimento desses microrganismos, tal capacidade é tida como uma propriedade inerente a determinada substância química (EDGINGTON et al., 1971; REIS et al., 2010). Para avaliar a fungitoxicidade de uma substância química, pode-se utilizar os parâmetros de DE_{50} (dose efetiva), DL_{50} (dose letal), CL_{50} (concentração letal), CE_{50} (concentração efetiva), ou CMI (concentração mínima inibitória), que inibe 50% do crescimento micelial ou da germinação de esporos (EDGINGTON et al., 1971; BAMPI et al., 2013).

O controle químico é em muitos casos a única forma eficiente de controle de diversos problemas fitossanitários, além de sua fácil aplicação bem como resultados imediatos. Os fungicidas mais empregados são sistêmicos pertencentes aos grupos químicos dos triazóis, que tem como ação inibir a síntese de esteróis, sua maior eficácia é observada nas fases de colonização ou crescimento micelial e a pré-esporulação do ciclo de vida dos patógenos. Porém, nos últimos anos também vem sendo utilizado os fungicidas formulados a partir das estrobirulinas isoladas ou em misturas pré-fabricadas, que são consideradas inibidores da respiração mitocondrial, tendo sua maior eficácia na fase de germinação dos esporos (GHINI; KIMATI, 2000; BAMPI et al., 2013).

De acordo com Rodrigues et al. (2007), os fungicidas de ação protetora apresentam baixo risco de resistência pelo patógeno, devido ao amplo espectro de ação. Já os fungicidas de ação sistêmica apresentam alto risco de resistência adquirida pelo patógeno, como é o caso dos benzimidazóis, visto que apresentam maior especificidade, desse modo o fungicida age em apenas determinadas rotas metabólicas dos fungos (GHINI; KIMATI, 2000).

A perda de sensibilidade dos fungos a determinadas moléculas químicas, é definida como uma alteração herdável e estável para um fungo em resposta à aplicação continuada de um fungicida, gerando uma redução da sensibilidade a determinadas moléculas, esta capacidade pode estar relacionada a redução da eficácia destas em condições de campo (BRENT, 1995; GHINI; KIMATI, 2000).

De acordo com Tozze et al. (2004), alguns fungos quando ameaçados tem a capacidade de expressar genes que ativam a insensibilidade ou resistência a determinados fungicidas, essa capacidade está relacionada a mecanismos de

variabilidade ligada a mutação ou reprodução sexual, o que favorece a seleção de linhagens e populações resistentes surgidas aleatoriamente ou induzidas. Desse modo, o monitorar a sensibilidade de uma população de fungos alvos, é essencial para determinar a presença de isolados resistentes.

Assim, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a sensibilidade *in vitro* do fungo *Penicillium* sp. a diferentes fungicidas sobre a inibição do crescimento micelial e o índice de velocidade do crescimento micelial.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos na Clínica Fitossanitária do Departamento de Defesa Fitossanitária do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, no período de Julho a agosto de 2015. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em fatorial, com 4 repetições. Constituído por 3 fungicidas e 6 concentrações (0, 10, 50, 100, 500 e 1000 ppm).

Os fungicidas utilizados foram: Epoxiconazol + Piraclostrobina (Abacus HC®), Ciproconazol + Picoxistrobina (Approach Prima®), Fluxapirroxade + Piraclostrobina (Orkestra SC®).

Foi utilizado um isolado do fungo *Penicillium* sp., proveniente de grãos de milho naturalmente infectados cultivados na safra agrícola de 2014/15, na área experimental da Cooperativa Central Gaúcha Ltda (CCGL), localizada no município de Cruz Alta, região centro-norte do estado de Rio Grande do Sul. Inicialmente 25 grãos foram distribuídos no interior de caixas plásticas do tipo gerbox, previamente limpas com álcool etílico 70%, contendo uma camada de três folhas de papel filtro autoclavada e umedecidas em água destilada, em câmara de fluxo laminar, posteriormente as caixas foram armazenadas em câmara de crescimento sob iluminação contínua, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, por um período de nove dias. Após este período esporos do fungo foram removidos com auxílio de uma agulha histológica e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e cultivado por 7 dias à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h.

A partir de uma solução estoque (SE) de 1000 ppm de cada produto comercial (fungicidas). Foram realizadas diluições das SE em água destilada e estéril, para

obtenção das concentrações 10, 50, 100 e 500 ppm. A mistura das diferentes concentrações dos fungicidas com o meio de cultura BDA foi realizada quando este ainda se encontrava em fase líquida, após a esterilização, com temperatura de 38 a 45 °C, posteriormente foram adicionados 20 mL da mistura BDA + diferentes concentrações dos fungicidas em cada placa de Petri de 9 cm de diâmetro, procedimento realizado em câmara de fluxo (LOPES et al., 2015). A dose 0 consistiu em BDA sem fungicida.

Após a solidificação das placas de Petri contendo BDA com as referidas doses dos fungicidas, foram transferidos discos de 5 mm contendo micélios em crescimento ativo em BDA do fungo. As placas foram mantidas em incubação por dez dias, a temperatura de 25° ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h.

As avaliações tiveram como base medições diárias do diâmetro das colônias, com auxílio de um paquímetro digital, em eixos ortogonais (média das duas medidas diametralmente opostas), até que o tratamento testemunha atingisse os bordos da placa (MAIA et al., 2011). Com base nestes dados calculou-se:

Porcentagem de inibição de crescimento micelial (PICM - %), através da fórmula citada por Garcia et al. (2012):

$$PICM = \frac{(DTT - DTQ)}{DTT} \times 100$$

Onde:

DTT= diâmetro no tratamento testemunha;

DTQ= diâmetro no tratamento químico (fungicidas).

Índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM - mm.dia⁻¹), com base na fórmula descrita por Oliveira (1991):

$$IVCM = \sum \frac{(D - D\alpha)}{N}$$

Onde:

D= diâmetro médio atual da colônia;

Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior;

N= número de horas ou dias após a inoculação.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro, já as médias das variáveis quantitativas foram submetidas a uma análise de regressão, com auxílio do programa estatístico Sisvar versão 5.1 (FERREIRA, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise da variância da porcentagem de inibição de crescimento micelial e índice de velocidade do crescimento micelial de isolado de *Penicillium* sp., indicam que existe diferença significativa entre os tratamentos de cada fator, assim como na interação entre os fatores de variação: Concentração, Fungicidas, Concentração x Fungicidas (Tabela 1). Os baixos valores de coeficiente de variação mostram que os dados observados satisfazem a premissa de normalidade.

Tabela 1. Resumo da análise de variância e valores médios de porcentagem de inibição de crescimento micelial (PICM) e índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) de fungos do gênero *Penicillium* sp. isolados de grãos de milho.

Tratamentos	PICM (%)	IVCM
F ¹		QM ²
Tratamento (T)	3472,11*	111,40*
Concentração (D)	6479,18*	419,47*
T*D	398,50*	17,66*
Erro	123,82	3,11
CV (%)	26,31	16,73

⁽¹⁾ Teste F, ⁽²⁾ Quadrado médio, * significativo a 5% e ^(NS) não significativo.

Ao analisar os diferentes tipos de fungicidas utilizados, constatou-se diferença significativa ($P \leq 0,05$) para a porcentagem de inibição do crescimento micelial de fungos do gênero *Penicillium* sp. Sendo que os fungicidas Fluxapiraxade + Piraclostrobina e Epoxiconazol + Piraclostrobina foram os que proporcionaram maior efeito inibitório de crescimento micelial, com médias variando entre 40 e 50% de inibição. Estes fungicidas apresentam em comum em sua formulação o princípio ativo Piraclostrobina, que por sua vez pertencente ao grupo químico das estrobilurinas, destacando assim a eficácia deste grupo químico (Figura 1A).

A eficácia dos princípios ativos pertencentes ao grupo químico das estrobilurinas também foi descrito por Lopes et al. (2015), que ao avaliarem a sensibilidade de diferentes isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas, constataram que o uso do produto químico Nativo foi o que proporcionou um menor

crescimento micelial, formulado pela mistura dos princípios ativos Trifloxistrobina + Tebuconazol.

Resultados semelhantes foram obtidos por Chaves Neto et al. (2016), que constatou eficácia do fungicida Azoxistrobina + Benzovindiflupir em inibir o crescimento micelial de fungos dos gêneros *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp.

Quanto ao fator concentração, constatou-se que quanto maior a concentração dos fungicidas aplicados maior a porcentagem de inibição do crescimento, sendo a maior inibição apresentada nas concentrações de 1000 e 500 ppm, com médias superiores a 60 %, diferindo estatisticamente da concentração de 0 ppm (Figura 1B).

Lopes et al. (2015), ao avaliarem a sensibilidade de diferentes isolados de *C. gloeosporioides* a fungicidas utilizados para controle de antracnoses, constataram que em paralelo ao aumento das concentrações dos fungicidas houve uma maior inibição do crescimento micelial.

A eficácia dos fungicidas pertencente ao grupo químico das estrobilurinas também foi reportado por Chaves Neto et al. (2017), visto que obtiveram como resultado eficácia superior a 90% no controle de mancha branca do milho (*Phaeosphaeria maydis*) em condições de campo, para os fungicidas Epoxiconazol + Piraclostrobina, Ciproconazol + Picoxistrobina e Azoxistrobina + Benzovindiflupir, ambos com um dos princípios ativos do grupo das estrobilurinas.

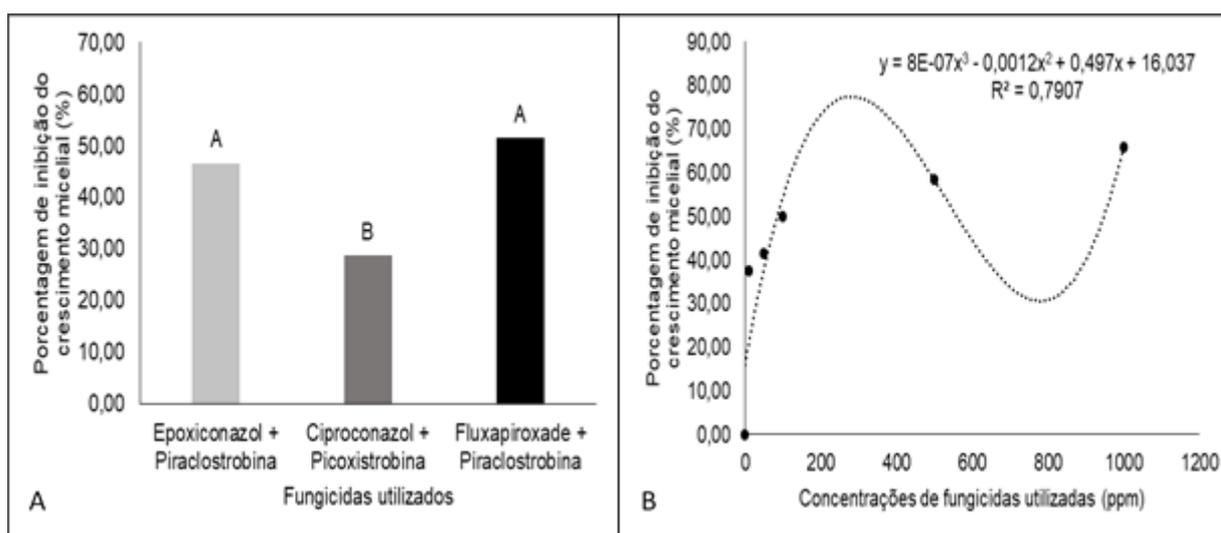


Figura1. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM - %) do fungo *Penicillium* sp. A. tipos de fungicidas, B. diferentes concentrações de fungicidas. (Valores seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey, em nível de significância de 5%).

Ao analisar o desdobramento das concentrações dentro de cada tratamento para a porcentagem de inibição do crescimento micelial do fungo *Penicillium* sp., constatou-se que houve diferença significativa entre as concentrações para todos os fungicidas testados no experimento (Figura 3A, B, C).

Quanto ao fungicida Epoxiconazol + Piraclostrobina, as maiores porcentagens de inibição do crescimento micelial foi observado nas concentrações de 100, 500 e 1000 ppm, as quais não diferiram entre si, com médias variando entre 60 e 70% (Figura 3A).

Para os resultados do fungicida Ciproconazol + Picoxistrobina, constatou-se que as concentrações de 500 e 1000 ppm foram as que apresentaram as maiores porcentagens de inibição do crescimento micelial, com porcentagens superiores a 40% (Figura 3B).

Para o fungicida Fluxaproxade + Piraclostrobina, constatou-se que a concentração que apresentou as maiores porcentagens de inibição do crescimento micelial foi a de 1000 ppm, com média superior a 50% (Figura 3C).

Bampi et al. (2013) e Chaves Neto et al. (2016), avaliando a sensibilidade de fungos a fungicidas, também observaram diferenças entre as concentrações e descreveram que quanto maior a concentração menor o crescimento micelial e conseqüentemente maior efeito inibitório dos fungicidas. Além de constatarem que os fungicidas do grupo das estrobilurinas, mesmo em baixas concentrações proporcionaram considerável redução no crescimento micelial dos fungos estudados.

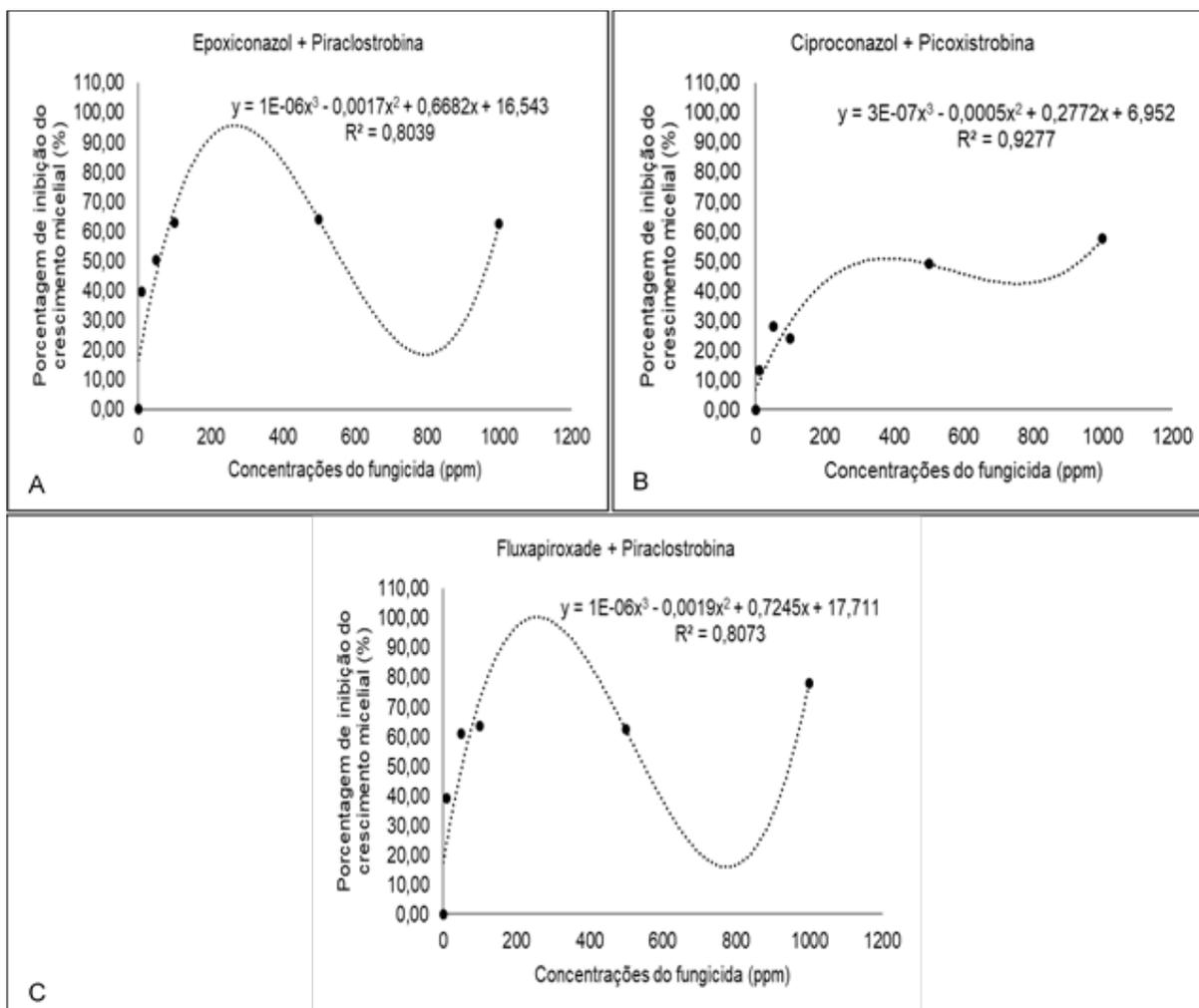


Figura 3. Desdobramento da interação concentração x fungicida. Epoxiconazol + Piraclostrobina (A), Ciproconazol + Picoxistrobina (B) e Fluxapiróxade + Piraclostrobina (C), referente a porcentagem de inibição do crescimento micelial do fungo *Penicillium* sp.

O índice de velocidade média de crescimento micelial (IVCM) do fungo *Penicillium* sp. sofreu influência de todos os fatores estudados, assim como pela interação entre eles, concentração x tratamento (fungicida) (Tabela 2).

Para o fator tratamento observou-se que o menor índice de velocidade foi constatada para o fungicida Fluxapiróxade + Piraclostrobina, com $9,03 \text{ mm/dia}^{-1}$, não diferindo estatisticamente do fungicida Epoxiconazol + Piraclostrobina, com $9,58 \text{ mm/dia}^{-1}$. Os maiores índices foram observados no fungicida Ciproconazol + Picoxistrobina com $13,01 \text{ mm/dia}^{-1}$ (Tabela 2).

De modo geral, para o fator concentração, observou-se redução significativa do crescimento micelial com o aumento da concentração para todos os fungicidas testados (Tabela 2). O menor índice de velocidade média de crescimento micelial foi observado na concentração de 1000 ppm, com $5,79 \text{ mm/dia}^{-1}$, não diferindo

estatisticamente das concentrações de 500 e 100 ppm, com 6,63 e 7,85 mm/dia⁻¹, respectivamente.

Estes resultados diferem dos obtidos por Maia et al. (2011), que ao avaliarem o efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp., constataram que não houve interação significativa para o índice de crescimento micelial (IVCM) considerando os isolados analisados e a temperatura.

Quanto ao desdobramento das concentrações dentro de cada tratamento para índice de velocidade média de crescimento micelial do fungo *Penicillium* sp., constatou que houve diferença significativa entre as concentrações para todos os fungicidas testados no experimento, visto que quanto maior foi a concentração do fungicida menor foi o IVCM (Tabela 2).

Para o fungicida Epoxiconazol + Piraclostrobina, observou-se que o menor índice de crescimento micelial foi constatado na concentração de 1000, com 5,46 mm/dia⁻¹, não diferindo das concentrações de 500 e 100 ppm. O maior IVCM foi constatado na concentração 0 ppm (testemunha), com média de 21,92 mm/dia⁻¹ (Tabela 2).

Para os resultados do fungicida Ciproconazol + Picoxistrobina, a concentração que apresentou o menor índice de crescimento micelial foi de 1000 ppm, com média de 6,88, não diferindo da concentração de 500 ppm. A concentração de 0 ppm (testemunha), apresentou o maior IVCM, com média de 21,92 mm/dia⁻¹ (Tabela 2).

No fungicida Fluxapiraxade + Piraclostrobina, a concentração de 0 ppm (Testemunha) foi a que apresentou o maior índice de crescimento micelial em relação as diferentes concentrações, que formam semelhantes entre si, e promoveram os menores índice, com médias variando de 5,02 a 8,09 mm/dia⁻¹ (Tabela 2).

Tabela 2. Índice de velocidade média de crescimento micelial (IVCM - mm/dia⁻¹) do fungo *Penicillium sp.*

Concentrações (ppm)	Tratamentos			Média Geral
	Epoxiconazol +	Ciproconazol +	Fluxapiraxade +	
	Piraclostrobina	Picoxistrobina	Piraclostrobina	
0	21,92c	21,92d	21,92b	21,92c
10	10,60b	16,26c	5,94a	10,93b
50	7,74ab	14,54c	8,09a	10,12b
100	5,81a	10,80b	6,95a	7,85a
500	5,98a	7,65ab	6,26a	6,63a
1000	5,46a	6,88a	5,02a	5,79a
Média Geral	9,58A	13,01B	9,03A	

* Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey, em nível de significância de 5%.

4. CONCLUSÕES

A porcentagem de inibição do crescimento micelial do fungo *Penicillium sp.*, de modo geral é proporcional as concentrações dos fungicidas utilizados, isto é, quanto maior a concentração do fungicida, maior o efeito inibitório do crescimento micelial do fungo.

Os fungicidas que apresentaram a maior inibição micelial *in vitro* foram os apresentam em sua formulação princípios ativos pertencentes ao grupo químico estrobilurina.

De modo geral, ocorreu redução do índice de velocidade média de crescimento micelial do fungo *Penicillium sp.* em paralelo ao aumento das concentrações dos fungicidas.

REFERÊNCIAS

BAMPI, D.; CASA, R.T.; WORDELL FILHO, J.Á.; BLUM, M. M. C.; CAMARGO, M.C. Sensibilidade de *Stenocarpella macrospora* a fungicidas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.29, n. 4, p.787-795, 2013.

BRENT, K. J. **Fungicide resistance in crop pathogens**: how can it be managed Brussels: GIFAP, 1995. 48 p.

CHAVES NETO, J. R.; COSTA, I. F. D.; BOSCAINI, R.; LEDUR, N. R.; GUERRA R. C. Sensibilidade *in vitro* de fungos isolados de grãos de milho ao fungicida azoxistrobina + benzovindiflupir em diferentes concentrações. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 13, n. 23, p. 1211-1224, 2016.

CHAVES NETO, J.R.; TRAVESSINI, M; BOSCAINI, R.; LEDUR, N. R.; COSTA, I. F.D. Eficácia da aplicação foliar de fungicidas no controle de mancha-branca do

milho. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 11, n. 1, p. 31-36, 2017.

CITADIN, I.; BERTUOL, O.; BASSANI, M. H.; SOUSA, R. N.; PINOTTI, L. C. A.; SOLETTI, T. Controle da ferrugem da folha de pessegueiro mediante pulverizações com diferentes fungicidas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n.2, p. 317-319, 2005.

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, v 61, n. 1, p. 42- 44, 1971.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. G.; CASSEMIRO, T. A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n.1, p. 48-57, 2012.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: EMBRAPA MEIO AMBIENTE, 2000. 78 p.

LOPES, L. N. S.; SILVA, A. S.; PEREIRA, C. C. O.; MENEZES, I. P. P.; MALAFAIA, G.; LIMA, M. L. P. Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Multi-Science Journal**, Urutaí, v. 1, n. 1, p. 106-114, 2015.

MAIA, F. G. M.; ARMESTO, C.; ZANCAN, W. L. A.; MAIA, J. B.; ABREU, M. S. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de mangueira com sintomas de antracnose. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 2, p. 205-210, 2011.

MARQUES, O. J.; VIDIGAL FILHO, P. S.; DALPASQUALE, V. A.; SCAPIM, C. A.; PRICINOTTO, L. F.; MACHINSKI JÚNIOR. M. Incidência fúngica e contaminações por micotoxinas em grãos de híbridos comerciais de milho em função da umidade de colheita. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 4, p. 667-675, 2009.

MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M.; GRAVENA, J. C.; ALVES, C. A. Controle químico de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho: metodologia de avaliação e efeitos sobre a qualidade fisiológica. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 626-632, 2003.

PINTO, N. F. J. A. Grãos ardidos em milho. (Circular técnica, 66). Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2005.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BRESOLIN, A. C. R. **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. 2. ed. Lages: Graphel, 2004. 144p.

CASA, R.T.; REIS. E M.; ZAMBOLIM, L. Doenças do milho causadas por fungos do gênero *Stenocarpella*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 5, p. 427-439, 2006.

RODRIGUES, M. B. C.; ANDREOTE, F. D.; SPÓSITO, M. B.; AGUILLAR-VILDOSO, C. I.; ARAÚJO, W. L.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 3, p. 323-327, 2007.

TOZZE JÚNIOR, H. J.; MELLO, M. B. A.; MASSOLA JÚNIOR, N. S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.30, n.1, p.73-73, 2004.