PERSISTÊNCIA DE BENOMYL EM MUDAS DE
Eucalyptus cloeziana E *E. grandis* APLICADO EM TRATAMENTO
DE SOLO E PULVERIZAÇÃO FOLIAR

IVAN PAULO BEDENDO

Orientador: Prof. Dr. TASSO LEO KRÜGNER

Tese apresentada à Escola
Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz", da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia. Área de
Concentração: Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Junho - 1986

Aos meus pais

Ivo e Lourdes,

MINHA GRATIDÃO.

A minha esposa Ana Carolina
e aos meus filhos Marcos Henrique
e Guilherme Henrique,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pela oportunidade concedida para a realização do curso de doutorado.

Ao Professor Dr. Tasso Leo Krügnner pela orientação na elaboração da tese e amizade durante a realização do curso.

Ao Professor Dr. Décio Barbin do Departamento de Matemática e Estatística da ESALQ-USP pela orientação nos trabalhos de análise estatística.

Aos Professores do Departamento de Fitopatologia da ESALQ-USP pela consideração e amizade durante o período da realização do curso.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia da ESALQ-USP pela amizade e colaboração nos trabalhos de pesquisa durante a elaboração da tese.

Í N D I C E

	Página
RESUMO	viii
SUMMARY	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
Ensaio I - Fungitoxicidade do sistêmico (benomyl) e do protetor (chlorothalonil) sobre o crescimento micelial e a germinação de conídios de <i>Cylindrocladium</i> sp., <i>in vitro</i>	15
Ensaio II- Avaliação da absorção, translocação e persistência de benomyl, aplicado ao solo, em mudas de <i>E. grandis</i> e de <i>E. cloeziana</i>	17
Ensaio III-Efeito de diferentes doses de benomyl, aplicado ao solo, sobre sua persistência em mudas de <i>E. cloeziana</i>	18
Ensaio IV- Avaliação da persistência do fungicida sistêmico aplicado na parte aérea de mudas de <i>E. cloeziana</i>	19

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
Ensaio I - Fungitoxicidade do sistêmico (benomyl) e do protetor (chlorothalonil) sobre o crescimento micelial e a germinação de conídios de <i>Cylindrocladium</i> sp., <i>in vitro</i>	21
Ensaio II- Avaliação da absorção, translocação e persistência de benomyl, aplicado ao solo, em mudas de <i>E. grandis</i> e de <i>E. cloeziana</i>	23
Ensaio III-Efeito de diferentes doses de benomyl, aplicado ao solo, sobre sua persistência em mudas de <i>E. cloeziana</i>	28
Ensaio IV- Avaliação da persistência do fungicida sistêmico aplicado na parte aérea de mudas de <i>E. cloeziana</i>	34
5. CONCLUSÕES	39
6. LITERATURA CITADA	40

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1 - Efeito fungitóxico comparativo de benomyl e chlorothalonil sobre <i>Cylindrocladium</i> sp., <i>in vitro</i>	21
Quadro 2 - Avaliação da absorção, translocação e persistência de benomyl, aplicado ao solo, por plantas de <i>E. grandis</i> e de <i>E. cloeziana</i> , através da porcentagem de doença em folhas (topo e base) inoculadas com <i>Cylindrocladium</i> sp.....	24
Quadro 3 - Avaliação da absorção, translocação e persistência de benomyl, aplicado ao solo, por plantas de <i>E. grandis</i> e de <i>E. cloeziana</i> , através da porcentagem de doença em partes de hastes (topo e base) inoculadas com <i>Cylindrocladium</i> sp.....	25
Quadro 4 - Persistência de benomyl, aplicado ao solo, em plantas de <i>E. cloeziana</i> , avaliada semanalmente em folhas destacadas inoculadas com <i>Cylindrocladium</i> sp	28

Quadro 5 - Efeito de doses de benomyl sobre o desenvolvimento de plantas de <i>E. cloeziana</i> , avaliado em relação aos parâmetros altura e peso de matéria fresca aos 60 dias após a semeadura	32
Quadro 6 - Persistência de benomyl e chlorothalonil aplicados em pulverização na parte aérea de plantas de <i>E. cloeziana</i> , 30 dias após a semeadura avaliada em folhas destacadas e inoculadas com <i>Cylindrocladium</i> sp.....	35

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1 - Persistência de benomyl, aplicado ao solo, em plantas de <i>E. cloeziana</i> , avaliada semanalmente em folhas destacadas e inoculadas com <i>Cylindrocladium</i> sp	30
Figura 2 - Persistência de benomyl e chlorothalonil aplicados em pulverização na parte aérea de plantas de <i>E. cloeziana</i> , 30 dias após semeadura, avaliada em folhas destacadas e inoculadas com <i>Cylindrocladium</i> sp	36

PERSISTÊNCIA DE BENOMYL EM MUDAS DE *Eucalyptus cloeziana*
E *E. grandis* APLICADO EM TRATAMENTO DE SOLO
E PULVERIZAÇÃO FOLIAR

CANDIDATO: IVAN PAULO BEDENDO

ORIENTADOR: PROF. DR. TASSO LEO KRÜGNER

RESUMO

Ensaio foram conduzidos visando estudar a absorção, translocação e persistência de benomyl, aplicado ao solo, em mudas de *Eucalyptus*. A persistência deste fungicida, em aplicação foliar, foi avaliada em comparação com o fungicida protetor chlorothalonil.

Os fungicidas benomyl e chlorothalonil foram fungitóxicos a *Cylindrocladium* sp., escolhido como fungo teste. O crescimento micelial em BDA foi inibido totalmente a 10 ppm de benomyl, enquanto que 100 ppm de chlorothalonil não promoveu inibição completa, apesar de reduzir em 60% o crescimento em relação a testemunha. A germinação de esporos foi completamente inibida a 10 ppm de chlorothalonil e 100 ppm de benomyl, em suspensão aquosa.

Através da técnica da folha destacada foi demonstrada a eficiente absorção e translocação do benomyl em plantas de *Eucalyptus grandis* e de *E. cloeziana*, quando o fungicida foi

incorporado ao solo na dose de 8 g/m^2 .

A persistência de benomyl e o seu efeito sobre a doença induzida nas folhas destacadas, foram estudados em plantas de *E. cloeziana* cultivadas em solo tratado em pré-semeadura com 1, 2,4 e 8 g de benomyl/ m^2 . Utilizando a técnica da folha destacada, benomyl, em todas as doses, foi eficiente no controle do fungo sendo a sua persistência detectada até aos 53 dias após a semeadura. As doses de 2,4 e 8 g/m^2 mantiveram a doença em níveis mais baixos quando comparadas com a dose de 1 g/m^2 .

Quando incorporado ao solo, benomyl na dose de 8 g/m^2 foi fitotóxico a plantas de *E. cloeziana* amostradas aos 60 dias após a semeadura. A fitotoxidez foi evidenciada por clorose marginal e internerval e pela redução no peso da matéria fresca de plantas.

A persistência de benomyl ($0,5 \text{ g/l}$) e de chlorothalonil (2 g/l), utilizados na forma de pulverização foliar (1.000 l/ha) aos 30 dias após a semeadura, foi de até 11 e 9 dias, respectivamente, quando avaliada, através da técnica de folha destacada em plantas de *E. cloeziana* lavadas em água corrente por dois minutos, logo após a amostragem.

PERSISTENCE OF BENOMYL IN SEEDLINGS OF *Eucalyptus cloeziana*
AND *E. grandis* AFTER SOIL AND FOLIAR APPLICATION

AUTHOR: IVAN PAULO BEDENDO

ADVISER: PROF. DR. TASSO LEO KRÜGNER

SUMMARY

Trials were carried out to test the absorption, translocation and persistence of benomyl in seedlings of *Eucalyptus* after soil application. Persistence after foliar application of this fungicide was evaluated in comparison to chlorothalonil, as a protectant fungicide.

Benomyl and chlorothalonil were toxic to *Cylindrocladium* which was used as the fungus test. Mycelial growth in potato-dextrose-agar was completely inhibited at the concentration of 10 ppm of benomyl, whereas 100 ppm of chlorothalonil did not promote complete inhibition of the fungus. Chlorothalonil reduced growth by 60% in relation to the control at the concentration of 100 ppm. Conidium germination was completely inhibited at 10 ppm of chlorothalonil and 100 ppm of benomyl in water suspension.

Detached leaf technique trials showed efficient absorption and translocation of benomyl in *E. grandis* and *E.*

cloeziana seedlings after soil incorporation at the concentration of 8 g/m².

Persistence of benomyl, evaluated by the degree of disease severity in detached inoculated leaves, was verified in seedlings of *E. cloeziana* grown in soil treated before seeding at the doses of 1, 2, 4 and 8 g/m², until 53 days after seedling. Doses of 2, 4 and 8 g/m² were more efficient than the dose of 1 g/m² in reducing the amount of disease in the leaves. Dose of 8 g/m², however, was phytotoxic, resulting in marginal and interveinal chlorosis of the leaves and in reduction of the fresh matter weight of the seedlings.

Foliar application of benomyl (0,5 g/l) and chlorothalonil (2 g/l) sprayed at the dose of 1.000 liters/ha on seedlings of *E. cloeziana*, 30 days after seeding showed a persistence of 11 and 9 days, respectively, in leaves that were washed under running tap water immediately after sampling and before inoculation with the fungus test.

1. INTRODUÇÃO

A cultura do eucalipto, embora introduzida no Brasil no início do século e tendo avançado muito em área cultivada, tem apresentado necessidade de estudos mais específicos, principalmente aqueles relativos a estratégias de controle de doenças (KRÜGNER, 1980).

Dentre os problemas fúngicos que podem ocorrer em condições de viveiro, as doenças causadas por espécies de *Cylindrocladium* tem se mostrado bastante importantes, causando tombamento de mudas, podridão de colo e manchas foliares; no campo, as perdas são devidas à mortalidade de plantas previamente infectadas no viveiro, mortalidade esta provocada por lesões no caule, necrose e queda de folhas (KRÜGNER, 1980).

O emprego de fungicidas é recomendado como uma das medidas para o controle da doença. Em viveiros comerciais, a doença se torna crítica a partir dos 30 a 40 dias

após a semeadura devido a formação de um microclima favorável à doença, em razão da proximidade e do tamanho das plantas. A partir desta fase, as regas e as pulverizações não atingem adequadamente hastes, ramos, e folhas internas, restringindo a eficiência do fungicida. Alia-se a este problema a lavagem do fungicida ocasionada pela chuva e irrigação, as quais também promovem perda na eficiência do mesmo. O emprego do fungicida sistêmico, aplicado ao solo, pode propiciar um melhor controle da doença, pois devido a sua penetração e translocação na planta o mesmo pode atingir todas as partes vegetais existentes, inclusive aquelas formadas após sua aplicação, e evitar a perda do fungicida por lavagem (EDINGTON *et al.*, 1980). Quando aplicado na parte aérea, o fungicida sistêmico pode ser absorvido diretamente, evitando as perdas por lavagem e a sua redistribuição na planta compensa as falhas de cobertura que normalmente ocorrem nas pulverizações; estes fatores fazem com que o sistêmico possa ser utilizado em quantidades menores e com menor frequência de aplicação em relação ao fungicida protetor (CROWDY, 1971).

O fungicida benomyl tem sido um dos sistêmicos mais pesquisados e utilizados na prática para o controle de doenças, incluindo-se dentre elas as doenças que atacam as espécies florestais (SMALLEY, 1977).

Este fungicida tem se mostrado fungitóxico a *Cylindrocladium* (ANDRADE *et al.*, 1983) e eficiente no controle deste patógeno, quando utilizado em tratamento de solo

(SANTOS e KRÜGNER, 1985) e de parte aérea (BARNARD, 1981).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a absorção, translocação e persistência do benomyl em plantas de eucalipto através de duas formas de aplicação tratamento de solo e pulverização de parte aérea.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A ocorrência de fungos do gênero *Cylindrocladium* em plantas de eucalipto, no Brasil, tem sido registrada desde 1933 (ARRUDA, 1940). Posteriormente, estes fungos foram associados a seca de ponteiros de mudas (AMARAL, 1942), entumescimento do colo (ARRUDA, 1943), estiolamento de mudas (BATISTA, 1951) lesões em hastes (ABRAHÃO, 1949), e manchas foliares (CRUZ e FIGUEIREDO, 1961).

Espécies de *Cylindrocladium* são importantes em condições de viveiro, atacando as mudas em diferentes idades, causando "damping-off", podridão de raízes e doenças na parte aérea, contudo, os maiores danos ocorrem na copa, através do estrangulamento de hastes e/ou manchas foliares em mudas com mais de 10 cm de altura (KRÜGNER, 1980). As perdas podem ocorrer não só no viveiro, como também no campo, onde as mudas previamente infectadas são quebradas pelo vento (KRÜGNER, 1980).

O controle químico através de fungicidas sistêmicos teve um impulso muito grande a partir da década de 1960, com o descobrimento das oxatinas, das pirimidinas e dos benzimidazóis (ERWIN, 1973).

A distribuição do sistêmico depende do seu movimento através dos vasos condutores do xilema e floema. O movimento no xilema é governado pelo fluxo da corrente transpiratória, produzindo um movimento acropetal e um acúmulo nas folhas que tem maior taxa de transpiração; este tipo de movimento é observado na maioria dos fungicidas sistêmicos (WAIN e CARTER, 1977). Folhas muito jovens, flores e frutos que têm baixa taxa de transpiração recebem diminutas quantidades de fungicida, quando aplicado na raiz ou na semente (PETERSON e EDGINGTON, 1970).

Quando um fungicida não sistêmico é aplicado em uma planta, as áreas não cobertas na aplicação inicial podem ficar desprotegidas, bem como qualquer parte da planta que se desenvolva após a aplicação; além disto, o fungicida depositado na superfície da planta fica exposto às intempéries (WAIN e CARTER, 1977). Os compostos sistêmicos não apresentam estas

desvantagens, podendo até serem utilizados em menor dosagem e número de aplicação (ERWIN, 1973; EDGINGTON *et al.*, 1980).

O emprego dos fungicidas sistêmicos teve início com a descoberta, principalmente, do benomyl [metil-1-(butilcarbomoil)-2-benzimidazole carbamato] (EDGINGTON *et al.*, 1980) sendo que em 1968 foi publicado o primeiro trabalho sobre a característica sistêmica deste fungicida (DELP e KLOPPING, 1968) despertando o interesse do seu uso no controle de inúmeras doenças de plantas.

Benomyl, quando em solução aquosa, se decompõe rapidamente em metil-2-benzimidazole carbamato (MBC) (CLEMONS e SISLER, 1969), sendo este o único produto fungitóxico detectado em plantas tratadas (PETERSON e EDGINGTON, 1969a; SIMS *et al.*, 1969).

Benomyl tem sido aplicado ao solo, em tratamento de sementes e de pós colheita e no controle de doenças vasculares e foliares.

Em condições de laboratório, a fungitoxicidade do benomyl, em relação aos fungos do gênero *Cylindrocladium*, tem sido demonstrada através de testes de germinação de esporo e de crescimento micelial. *Cylindrocladium pteridis* apresentou sensibilidade de micélio a doses de 0,2 ppm de benomyl (SANTOS e KRÜGNER, 1985). Em isolado de *C. clavatum*, não houve desenvolvimento de micélio quando benomyl foi empregado na con

centração de 0,5 ppm; no caso de esporo, a germinação não foi inibida mesmo na presença de 25 ppm do fungicida (ANDRADE *et al.*, 1983). Três isolados de *C. clavatum*, de diferentes procedências, não apresentaram crescimento de micélio quando benomyl foi utilizado na dose de 1 ppm (HOMECHIN e KRÜGNER, 1980).

Quando aplicado ao solo, benomyl tem sido usado na forma de rega ou misturado ao substrato, sendo estes métodos vantajosos por suprirem continuamente a parte aérea da planta em MBC; a desvantagem é a grande quantidade necessária para seu uso no campo (ERWIN, 1973).

O controle de doenças vasculares e foliares através do emprego de benomyl no solo tem levado a pesquisas sobre tipos de substratos; doses; absorção, translocação e persistência do fungicida; efeito sobre a microflora; efeito sobre o desenvolvimento de plantas.

Quanto aos substratos, tem sido demonstrado que aqueles de maior porosidade favorecem a absorção. Entre os substratos de areia, perlite, turfa, solo e misturas dos mesmos, foi constatado maior acúmulo de fungicida nas plantas de olmo cultivadas em areia (SCHREIBER *et al.*, 1971). Plantas de ervilha desenvolvidas em substrato de fração limo mostraram sintomas mais severos de murcha quando comparadas com aquelas cultivadas em areia, embora estes substratos fossem tratados igualmente com benomyl (FUCHS *et al.*, 1970). Mudanças de olmo cresci-

das em areia apresentaram o dobro da concentração de fungicida, em comparação com plantas cultivadas em solo (HOCK *et al.*, 1970).

Em relação as doses de benomyl, estas são bastante variáveis dependendo da cultura, da doença, e do intervalo e forma de aplicação (CIMANOWSKI *et al.*, 1970; BIEHN, 1970; RAWLINS e BOOTH, 1968; NICHOLSON *et al.*, 1972; FUCHS *et al.*, 1970; PELLISSIER *et al.*, 1971; SCHREIBER *et al.*, 1971; BIEHN e DIMOND, 1971; SMALLEY, 1971; HOCK *et al.*, 1970).

Absorção, translocação e persistência de benomyl em plantas têm sido avaliadas em diversos experimentos. Em olmo foi determinado que a quantidade de fungicida nas mudas aumentou entre 5º e 30º dias após o tratamento, diminuiu até próximo do 60º dia e permaneceu constante até o 90º dia (SCHREIBER *et al.*, 1971). Folhas do terço médio de plantas de olmo acumularam mais fungicida do que aquelas do terço inferior e superior sendo o produto fungitóxico detectado até 110 dias após a aplicação de benomyl (HOCK *et al.*, 1970). A eficiente translocação de benomyl em plantas de olmo e a sua persistência nas folhas por 120 dias após a aplicação indicaram que a eficiência no controle de *Ceratocystis ulmi* foi maior quando o fungicida foi empregado antes da infecção (BIEHN e DIMOND, 1971). Em soja, cultivada em solo tratado, benomyl foi detectado em extratos de plântulas por um período de 5 semanas após o tratamento (GRAY e SINCLAIR, 1970); entretanto em feijoeiro, após um período de 15 dias, nenhum produto fungitóxico foi detectado (PETERSON e ED-

INGTON, 1969b). Em mudas de *Pinus caribaea*, o efeito fungitóxico de benomyl foi bastante acentuado em testes efetuados 20 dias após a aplicação do fungicida no solo (SANTOS, 1984).

O efeito de benomyl sobre a microflora do solo tem se mostrado leve e pouco duradouro (KAASTRA-HOWELER e GAMS, 1973). Mesmo usado em altas doses, benomyl não mostrou efeito adverso à população de fungos e bactérias, permitindo, inclusive, o isolamento de fungos dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Trichoderma* (PEEPLES, 1974). A persistência deste fungicida no solo é longa, atingindo períodos de 5 meses (HINE *et al.*, 1969); no caso de solo não cultivado, sua persistência, em termos de meia vida, chega a 6-12 meses (BAUDE *et al.*, 1974).

O desenvolvimento de plantas pode sofrer efeito positivo ou negativo do benomyl aplicado ao solo. Em plantas de ervilha, benomyl promoveu um aumento significativo na média do peso da matéria fresca de plantas (FUCHS *et al.*, 1970). Em olmo, houve estímulo ao crescimento de mudas, medido em termos de matéria fresca (ZARONSKY e STIPES, 1969). No entanto, em alguns casos benomyl produziu fitotoxidez evidenciada por cloro se apical e marginal em folhas de tomateiro (BIEHN e DIMOND, 1970) e de plantas de soja (GRAY e SINCLAIR, 1970). Em outros ensaios, nos quais foram utilizadas plântulas de olmo, o fungicida não afetou o desenvolvimento, medido em altura de planta (SCHREIBER *et al.*, 1971), nem produziu fitotoxicidade (SMALLEY, 1971; ZARONSKY e STIPES, 1969).

O emprego de benomyl, em termos práticos, visam do o controle de *Cylindrocladium* spp em espécies florestais tem dado bons resultados. Tratamento do solo com benomyl controlou eficientemente câncer da haste em plântulas de *Pinus strobus*, sendo demonstrado a mobilidade do fungicida das raízes para os ramos e acículas (SMALLEY, 1977). Em viveiros de enraizamento de estacas de azaleia, fungos do gênero *Cylindrocladium* foram completamente controlados pela aplicação de benomyl (HORST e HOITINK, 1968). Este fungicida também forneceu excelente controle de podridão de raízes causada por *Cylindrocladium* sp. em várias plantas ornamentais lenhosas (SMALLEY, 1977). Em mudas de *Pinus caribaea* foi demonstrada a translocação de benomyl das raízes para a parte aérea, indicando que o mesmo pode controlar a queima de acículas causada por *C. pteridis* (SANTOS e KRÜGNER, 1985).

O uso de benomyl na parte aérea tem sido feito através de pulverização da suspensão do produto nas folhas, ramos, flores e frutos.

Um problema sério do emprego de fungicidas sistêmicos na parte aérea se relaciona com a absorção, pois somente cerca de 5% do produto aplicado nas folhas entra na planta, sendo que o restante permanece na superfície atuando como protetor (EDGINGTON *et al.*, 1980).

Com relação a translocação de benomyl, foi

demonstrada a sua capacidade de se translocar a partir de folhas tratadas para folhas não tratadas, em macieira e cerejeira (CIMANOWSKI *et al.*, 1970). No entanto, este fungicida aplicado no solo, controlou mais eficientemente a incidência de diversos fungos em folhas inferiores do que em folhas superiores de plantas de soja (MILLER e ROY, 1982).

Informações sobre a persistência de um fungicida sistêmico na planta são importantes na determinação do intervalo e do número de aplicações necessárias ao controle de doenças (CLINE e NEELY, 1981). Benomyl controlou sarna em pecan, quando aplicado em intervalos de 4 a 5 semanas (BARNES, 1971). Mancha de *Cercospora*, em folhas de diversas espécies florestais, foi controlada através de pulverizações de benomyl espaçadas de 2 a 4 semanas (SMALLEY, 1977). Sarna da macieira tem sido bem controlada quando as pulverizações de benomyl são realizadas a intervalos de até 28 dias (BYRDE e JORDAN, 1977). Em feijoeiro o mofo branco foi controlado com 1 a 2 pulverizações de benomyl, as quais protegeram as folhas e as vagens por um período superior a 22 dias (MAUDE, 1977).

Na prática, o controle de *Cylindrocladium* com o uso de benomyl em pulverização foliar tem obtido sucesso em plantas de eucalipto apresentando manchas foliares e estrangulamento de hastes (BARNARD, 1981). Em plantas de azaléia, o fungicida promoveu o controle total do referido patógeno (ENGELHARD, 1971).

Na avaliação do efeito fungitóxico de produtos químicos aplicados no solo ou na planta, tem sido utilizadas diversas metodologias. As mais comuns são a técnica de bioautografia (PETERSON e EDGINGTON, 1969a; NICHOLSON *et al.*, 1972; PETERSON e EDGINGTON, 1969b); a técnica de discos de partes vegetais tratadas, plaqueados em meio de cultura semeado com fungos testes (BIEHN e DIMOND, 1970; HOCK *et al.*, 1970; PELLISIER *et al.*, 1971; BIEHN e DIMOND, 1971); e a técnica da folha destacada (BROWDER, 1964; WILCOXSON *et al.*, 1974; REIS e KIMATI, 1974; MIGNUCCI, 1978; MORAES e SALGADO, 1982). Embora os métodos de laboratório tenham sido bastante utilizados para avaliação inicial de fungicidas, a tendência atual é o emprego de plantas ou partes de plantas por estarem mais próximas das condições naturais (KO *et al.*, 1975).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, exceção feita ao ensaio I que foi realizado em condições de laboratório. O delineamento experimental inteiramente casualizado foi utilizado para todos os ensaios.

Foram utilizadas mudas de eucalipto pertencentes às espécies *Eucalyptus grandis* e *E. cloeziana*.

Dois fungicidas foram estudados, um sistêmico (benomyl) e um protetor (chlorothalonil). O benomyl foi utilizado na forma do produto comercial Benlate, formulação pó molhável com 50% de ingrediente ativo produzido pela Du Pont do Brasil S.A. O chlorothalonil foi empregado na forma do produto comercial Daconil, formulação pó molhável com 75% de ingrediente ativo, produzido pela Iharabras S.A.

A semeadura sempre foi feita a lanço, sendo utilizado como substrato um tipo de subsolo acondicionado em cai-

xas de madeira de dimensões 40 x 30 x 10 cm. A análise granulométrica do subsolo indicou a presença de 26,8% da fração areia (2-0,005 mm), de 38,6% da fração limo (0,05 - 0,002 mm) e de 34,6% da fração argila.

A adubação foi feita com fertilizante de fórmula 5:30:30 em NPK, na base de 80 g/m². O desbaste de plantas foi realizado aos 20 dias após a semeadura, mantendo-se uma densidade média de 400 a 500 mudas/m².

A avaliação da absorção, translocação e persistência dos fungicidas foi realizada através de bio-ensaio, sendo utilizada a técnica da folha destacada (MORAES e SALGADO, 1982) e um isolado de *Cylindrocladium* como fungo teste. As plantas amostradas foram arrancadas das caixas e levadas para laboratório. Folhas e, em alguns casos, hastes, foram colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo duas folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada, sobre as quais foram assentadas duas lâminas de vidro. O material vegetal permaneceu sobre as lâminas; a extremidade dos pecíolos e das hastes foi mantida em contato com algodão umedecido.

A inoculação foi feita através da pulverização de uma suspensão de conídios ($1-2 \times 10^4$ conídios/ml) de *Cylindrocladium* sp. sobre as folhas e as hastes, até que fosse atingida a proximidade do ponto de escoamento. Em seguida, cada placa foi coberta por uma folha de plástico transparente, sobre a qual foi colocada a tampa para manutenção de alta umidade.

O material foi incubado em estufa a 28°C durante um período de 5 dias, sendo o plástico retirado 48 horas após o início da incubação.

A avaliação foi realizada nas folhas e hastes destacadas e inoculadas, tomando-se como parâmetros a porcentagem de área foliar doente ou a porcentagem da haste tomada pelo fungo.

A suspensão de conídios de *Cylindrocladium* sp., isolado de plantas de *Pinus* sp., foi obtida a partir de colônias do fungo com 15 dias de idade, cultivadas em batata-dextrose-âgar (BDA) contido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro e mantidas em temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$). O espalhante Tween 20 foi acrescentado à suspensão. A padronização do inóculo foi feita em lâmina de contagem de Neubauer, levando-se em consideração somente os conídios. As partes de hifas presentes na suspensão foram desprezadas na padronização do inóculo, e ocorreram em pequena quantidade.

ENSAIO 1 - Fungitoxicidade do sistêmico (benomyl) e do protetor (chlorothalonil) sobre o crescimento micelial e a germinação de conídios de *Cylindrocladium* sp., *in vitro*.

Em relação ao crescimento de colônia, benomyl foi utilizado nas concentrações 0,1; 1 e 10 ppm, enquanto o

chlorothalonil foi empregado nas proporções de 0,1; 1; 10 e 100 ppm.

Os fungicidas foram incorporados, em BDA, após a esterilização, sendo usadas 4 placas de Petri de 9 cm de diâmetro para cada concentração. A testemunha não recebeu incorporação de fungicida. Para cada placa foi transferido um disco de ágar de 5 mm de diâmetro contendo micélio, o qual foi obtido dos bordos de colônias cultivadas em BDA, com 15 dias de idade. O material foi incubado em estufa regulada para 28°C, durante um período de 5 dias. A avaliação foi feita medindo-se o diâmetro da colônia presente em cada placa.

Para os estudos de germinação de conídios, tanto o benomyl como o chlorothalonil foram utilizados nas concentrações de 0,1; 1; 10 e 100 ppm.

A suspensão de conídios ($1-2 \times 10^4$ conídios/ml) foi obtida através da lavagem de colônias cultivadas em BDA, com 15 dias de idade. Volumes iguais de suspensões de fungicidas e de conídios foram misturados em frascos de Erlenmeyer; no caso da testemunha foram misturados volumes iguais de água e suspensão de conídios. Para cada um dos tratamentos e para a testemunha, uma gota de cada suspensão foi colocada no centro de 4 lâminas de vidro, sendo cada uma colocada no interior de uma placa de Petri contendo duas folhas de papel de filtro

umedecidas. Estes conjuntos foram levados para incubação a 25°C, em condições de escuro, durante 4 horas. Este tempo foi determinado em testes preliminares como ideal para avaliação da germinação. Ao final deste período, o material foi observado ao microscópio, onde se procedeu à determinação da porcentagem de germinação dos conídios. Foi considerado como conídio germinado aquele que apresentou um tubo germinativo visível, não excedendo ao comprimento do conídio. O ensaio foi realizado com 4 repetições, sendo que cada placa de BDA e cada gota de suspensão representou uma repetição.

ENSAIO 11 - Avaliação da absorção, translocação e persistência de benomyl, aplicado ao solo, em mudas de *E. grandis* e de *E. cloeziana*

O experimento foi realizado com 3 repetições, sendo que cada caixa se constituiu em uma repetição. Foram utilizadas as duas espécies de eucalipto, sendo cada espécie semeada em 6 caixas. Em 3 destas caixas, o fungicida foi incorporado ao substrato, em pré-semeadura na dose de 8 g de benomyl/m², que corresponde a 90 ppm; as 3 caixas restantes não receberam fungicida e serviram como testemunhas.

A avaliação foi iniciada aos 30 dias após a semeadura, sendo amostradas, semanalmente, 5 plantas de cada caixa até o final de um período de 65 dias após a semeadura. Cada planta

foi dividida em parte superior e parte inferior, sendo denominadas de folhas do topo, o segundo par de folhas contado a partir do ápice da planta; folhas basais, o par imediatamente acima do cotiledonar; parte do topo da haste, aquela situada na metade superior da planta; e parte basal da haste, aquela localizada na metade inferior.

As partes das plantas foram inoculadas e ao final do período de incubação foram avaliadas de acordo com os parâmetros adotados.

ENSAIO III - Efeito de diferentes doses de benomyl, aplicado ao solo, sobre sua persistência em mudas de *E. cloeziana*

O fungicida foi empregado em 4 doses (8 g, 4 g, 2 g e 1 g de benomyl/m²), sendo cada uma delas incorporadas em pré-semeadura ao substrato contido em 3 caixas. Assim, foram semeadas 15 caixas com a espécie *E. cloeziana*, sendo 12 tratadas e 3 testemunhas sem tratamento fungicida. O ensaio, portanto, foi realizado com 3 repetições, onde cada caixa representou uma repetição.

Após 25 dias da semeadura, foi iniciada a avaliação. Cinco plantas de cada caixa foram amostradas semanalmente, até que as plantas semeadas em substrato tratado se igualassem às testemunhas, com relação à presença de fungicida nas mesmas. Este período teve a duração de 74 dias após a semeadura.

Nas plantas amostradas, uma das folhas do 2º par, contado a partir do ápice da planta, foi destacada e inoculada. Ao término do período de incubação, as avaliações foram feitas com base no parâmetro pré-estabelecido.

Ainda neste ensaio, foi estabelecida uma relação entre o efeito das diferentes doses de fungicida sobre o desenvolvimento das plantas. Para isto, aos 60 dias após a semeadura, 10 plantas de cada repetição foram cortadas na altura do colo e, em seguida, foram determinados altura e peso da matéria fresca das mesmas.

ENSAIO IV - Avaliação da persistência do fungicida sistêmico aplicado na parte aérea de mudas de *E. cloeziana*

O fungicida sistêmico utilizado foi o benomyl, na dose de 0,5 g/l de água, sendo pulverizado 100 ml da suspensão/m²; chlorothalonil foi empregado como fungicida protetor na base de 2 g/l de água na proporção de 100 ml da suspensão/m². Foi utilizado um pulverizador manual com capacidade de 500 ml.

A espécie *E. cloeziana* foi semeada em 9 caixas. O tratamento químico foi feito aos 30 dias após a semeadura, sendo que 3 caixas receberam pulverização de benomyl, 3 de chlorothalonil e 3 não receberam fungicida, servindo como testemunha. As regas foram efetuadas através de mangueira sem atingir a parte aérea das mudas.

Este ensaio foi realizado, portanto, com 3 repetições, e cada caixa se constituiu em uma repetição.

A persistência dos fungicidas começou a ser avaliada 24 horas após a pulverização das plantas, sendo amostradas diariamente 5 plantas de cada caixa. As amostragens foram feitas até o ponto em que não mais fosse detectado o efeito dos fungicidas, ou seja, até que a reação das plantas tratadas fosse idêntica às testemunhas. Para uma mesma planta, uma das folhas do par amostrado foi lavada com água corrente durante dois minutos procurando-se retirar todo o resíduo fungicida presente na sua superfície, porém sem promover fricção; a outra folha do par foi plaqueada sem sofrer lavagem.

As folhas do 2º par, contado a partir do ápice das plantas amostradas, foram destacadas e inoculadas, sendo a avaliação feita após o período de incubação considerando-se o parâmetro área foliar doente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

ENSAIO I - Fungitoxicidade do sistêmico (benomyl) e do protetor (chlorothalonil) sobre o crescimento micelial e a germinação de conídios de *Cylindrocladium* sp., *in vitro*.

Os fungicidas benomyl e chlorothalonil apresentaram efeitos diferentes sobre o crescimento de micélio e germinação de esporos de *Cylindrocladium* sp. (Quadro 1).

Quadro 1 - Efeito fungitóxico comparativo de benomyl e chlorothalonil sobre *Cylindrocladium* sp., *in vitro*.

Concentração do fungicida (ppm)	Diâmetro (cm) da colônia em BDA com os fungicidas		Porcentagem de germinação de co- nídios na presença dos fungicidas	
	Benomyl	Chlorothalonil	Benomyl	Chlorothalonil
0	6,40a	6,40a	74a	74a
0,1	5,82a	5,32ab	78a	79a
1	1,30b	4,35bc	77a	71a
10	0 b	3,47cd	77a	0
100	0 b	2,65d	0	0

Médias, em cada coluna, seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey (5%).

O desenvolvimento de micélio foi totalmente inibido a 10 ppm de benomyl, enquanto a 100 ppm de chlorothalonil ainda foi observado crescimento micelial. Dentro do tratamento benomyl, a concentração de 1,0 ppm reduziu significativamente o crescimento radial de micélio, quando comparada com a de 0,1 ppm e com a testemunha. Para o chlorothalonil, as doses de 1, 10 e 100 ppm retardaram significativamente o crescimento micelial em relação a testemunha, sendo que 0,1 ppm não diferiu da mesma.

Quanto a germinação de esporos, benomyl a 100 ppm inibiu completamente a germinação, enquanto 10 ppm de chlorothalonil foi suficiente para promover o mesmo efeito. Para ambos os fungicidas, não foi constatada diferença significativa entre as demais doses empregadas e a testemunha.

Benomyl foi mais eficiente em promover inibição de micélio do que chlorothalonil. Esta informação indica que benomyl poderá controlar a doença causada por *Cylindrocladium* sp, pois pelo fato deste fungicida ser sistêmico ele atuará quando da colonização do tecido vegetal pelo patógeno, a qual é feita através do crescimento de micélio. Por outro lado, chlorothalonil se mostrou mais eficiente em inibir a germinação de esporos, indicando que o seu efeito é tipicamente protetor sendo exercido na fase de germinação de esporos, antes da penetração.

Os resultados obtidos neste ensaio não são totalmente concordantes com aqueles citados na literatura. A inibição completa do desenvolvimento de micélio foi obtida, neste ensaio, com 10 ppm de benomyl, enquanto o mesmo efeito em *C. clavatum* foi obtido com concentrações de 0,5 ppm (ANDRADE *et al*, 1983) e 1,0 ppm (HOMECHIN e KRÜGNER, 1980). Esta discordância pode ser justificada em razão da espécie empregada no ensaio ser diferente daquela mencionada na literatura. No entanto, há uma certa concordância entre os resultados, pois o fungo se mostrou sensível ao benomyl, em doses relativamente baixas. Quanto à germinação de esporo, os resultados obtidos não são comparáveis com aqueles da literatura, pois as dosagens de benomyl utilizadas são muito diferentes.

ENSAIO II - Avaliação da absorção, translocação e persistência de benomyl, aplicado ao solo, em mudas de *E. grandis* e de *E. cloeziana*.

Os resultados sobre a absorção e translocação de benomyl estão apresentados nos Quadros 2 e 3. As plantas de *E. grandis* se desenvolveram mais rapidamente do que aquelas de *E. cloeziana*, atingindo maior altura em menor período de tempo. Para as plantas de *E. grandis*, os testes envolvendo folhas basais e partes inferiores de hastes foram iniciados ao 44 dias

após a semeadura, pois a partir deste período as plantas atingiram uma altura razoável que permitiu sua divisão em parte superior e inferior. Para as plantas de *E. cloeziana*, folhas basais e partes inferiores de haste não foram testadas, pois devido ao crescimento mais lento das mesmas, dentro do período de duração do ensaio, não se justificou a divisão da planta em duas partes.

Quadro 2 - Avaliação da absorção, translocação e persistência de benomyl, aplicado ao solo, por plantas de *E. grandis* e de *E. cloeziana*, através da porcentagem de doença em folhas (topo e base) inoculadas com *Cylindrocladium* sp.

Dias após semeadura	<i>E. grandis</i>				<i>E. cloeziana</i>	
	sem		com		sem	com
	benomyl		benomyl		benomyl	benomyl
	topo	base	topo	base	topo	topo
30	100,0	-	0	-	100,0	0
37	100,0	-	0	-	100,0	0
44	94,0	95,3	0	0	98,6	0
51	94,0	94,6	0	0	97,3	1,6
58	90,0	95,3	16,6	3,6	96,6	16,3
65	92,6	94,6	29,3	10,3	92,0	49,3

Quadro 3 - Avaliação da absorção, translocação e persistência de benomyl, aplicado ao solo, por plantas de *E. grandis* e de *E. cloeziana*, através da porcentagem de doença em partes de hastes (topo e base) inoculadas com *Cylindrocladium* sp.

Dias após semeadura	<i>E. grandis</i>				<i>E. cloeziana</i>	
	sem benomyl		com benomyl		sem benomyl	com benomyl
	topo	base	topo	base	topo	topo
44	100,0	100,0	0	0	100,0	0
51	100,0	100,0	0	0	100,0	0
58	97,5	95,0	0	0	83,7	18,7
65	93,5	92,5	4,3	3,1	82,5	17,5

As plantas de eucalipto, tanto da espécie *E. grandis* como da *E. cloeziana*, cultivadas em solo tratado com benomyl apresentaram baixos níveis de doença, quando comparadas com as plantas testemunhas, desenvolvidas em solo sem tratamento, quando foi utilizado o teste da folha destacada.

Quando a avaliação da absorção e translocação do fungicida foi feita nas folhas, através da porcentagem de área foliar doente (Quadro 2), os resultados mostraram que até aos 51 dias após a semeadura o fungicida conferiu proteção to-

tal para ambas as espécies utilizadas, pois o nível de doença nas folhas foi praticamente zero. Quando o ensaio foi encerrado, aos 65 dias após a semeadura, a doença atingiu níveis de 10,3% e 29,3%, respectivamente, para folhas da base e do topo de *E. grandis* e de 49,3% para folhas do topo de *E. cloeziana*.

Na avaliação feita nas hastes (Quadro 3) foi demonstrado que o fungicida protegeu completamente as plantas de *E. grandis* até aos 58 dias após a semeadura, enquanto que para as plantas de *E. cloeziana* o mesmo efeito foi obtido até aos 51 dias. No período final de duração do teste, os níveis de doença atingiram 4,3% e 3,1%, respectivamente, para partes do topo e da base de hastes de plantas de *E. grandis* e 17,5% para partes do topo de hastes de *E. cloeziana*.

A proteção conferida pelo benomyl às plantas cultivadas em solo tratado indicou que a absorção e translocação do fungicida foi eficiente. Parte desta eficiência pode ser atribuída ao substrato utilizado, o qual era constituído por 26,8% da fração areia, pois substratos de maior porosidade favorecem a absorção de fungicidas pelas plantas (SCHREIBER *et al.*, 1971; FUCHS *et al.*, 1970). A dosagem elevada de benomyl (8 g/m^2) e a sua incorporação ao solo podem também ter contribuído, pois propiciaram um contínuo suprimento de fungicida às plantas, concordando com ERWIN (1977). A dose elevada utilizada neste ensaio, foi determinada com base na dosagem empírica de 4 g/m^2 utilizada em viveiros

comerciais, aplicada na forma de rega; a incorporação do fungicida ao solo foi a forma de aplicação escolhida em relação à rega, pelo fato do benomyl apresentar pouca mobilidade no solo (HINE *et al*, 1969).

Em relação as folhas, foi constatado em plantas tratadas, que as folhas basais apresentaram menores níveis de doença, quando comparadas com as folhas do topo. Isto, provavelmente, pode ser devido ao maior acúmulo do fungicida nas folhas basais, as quais apresentaram tamanho menor em relação às do topo. Estas se expandem rapidamente atingindo tamanho maior e provocando a diluição do fungicida.

As hastes foram avaliadas em relação ao fungicida por estarem sujeitas ao sintoma de estrangulamento causado pelo patógeno. Em viveiros comerciais, plantas com 30-40 dias após a sementeira propiciam a formação de um microclima favorável à doença, devido à proximidade e ao tamanho das mesmas. A partir desta fase, as regas e as pulverizações não atingem adequadamente as hastes e os ramos, ficando estas partes pouco protegidas; por este motivo foi estudado o efeito do tratamento de solo sobre as hastes, o qual se revelou eficiente.

Através dos resultados obtidos neste ensaio ficou claramente demonstrada a absorção e a translocação do fungicida em plantas de eucalipto.

ENSAIO 111 - Efeito de diferentes doses de benomyl, aplicado ao solo, sobre sua persistência em mudas de *E. cloeziana*.

A partir dos 25 até aos 53 dias após a semeadura todas as doses testadas (1 a 8 g/m²) foram eficientes no controle do patógeno, em comparação com a testemunha (Quadro 4). Isto foi evidenciado pela diferença significativa existente entre as médias das plantas tratadas e das testemunhas.

Quadro 4 - Persistência de benomyl, aplicado ao solo, em plantas de *E. cloeziana*, avaliada semanalmente em folhas des-tacadas e inoculadas com *Cylindrocladium* sp.

Dias após semeadura	Doses				Testemunha (sem benomyl)
	8 g/m ²	4 g/m ²	2 g/m ²	1 g/m ²	
	-----% área foliar doente -----				
25	0,0c	1,2c	1,7c	9,2b	93,0a
32	0,0c	0,5c	1,2c	13,4b	95,3a
39	0,0c	1,1c	0,6c	15,4b	98,0a
46	0,0c	2,2c	1,4c	12,3b	92,0a
53	12,0d	19,0c	15,0c	37,0b	93,3a
60	38,0b	43,6b	52,0ab	73,0ab	86,0a
67	72,0a	78,6a	77,3a	84,6a	90,6a
74	78,0a	76,0a	84,6a	82,0a	87,3a

Na análise estatística os dados originais foram transformados em $\log_e (x+1)$. Médias, em cada linha, seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

As doses de 2, 4 e 8 g/m² mostraram efeitos idênticos até 46 dias após a semeadura, mantendo a doença medida nas folhas destacadas, em níveis baixos (Figura 1). Aos 60 dias, as 4 doses apesar de não apresentarem diferença significativa entre si, mostraram tendências diferentes em relação ao controle de doença.

Aos 60 dias, as doses de 1 e 2 g/m² não diferiram significativamente da testemunha, indicando que o fungicida não mais foi efetivo a partir deste período. Para as doses de 4 e 8 g/m² este efeito foi constatado aos 67 dias após a semeadura.

A avaliação da persistência do fungicida nas plantas foi iniciada aos 25 dias após a semeadura, pois antes deste período as plantas apresentaram pequeno tamanho impossibilitando a coleta das folhas para os testes de folha destacada. A dose de 1 g/m², embora menos eficiente que as demais, manteve a doença em baixos níveis em relação a testemunha. Isto indicou que a mesma poderá ser empregada na prática, pois além de controlar a doença tem a seu favor o custo menos oneroso em comparação com as demais doses.

As mudas de *E. cloeziana* são levadas a campo 80 a 100 dias após a semeadura. Os dados do ensaio mostraram que o fungicida atua eficientemente até próximo dos 60 dias após a semeadura. Desta forma o fungicida não é capaz de proteger a muda até a sua formação completa; este fato limita o emprego da

Figura 1 - Persistência de benomyl, aplicado ao solo, em plantas de *E. cloeziana*, avaliada semanalmente em folhas destacadas e inoculadas com *Cylindrocladium* sp.

técnica de tratamento de solo com benomyl. No entanto esta técnica poderá ser complementada com pulverizações ou regas, ou mesmo ser mais adequada para as espécies de eucalipto cujo período de formação da muda seja mais curto do que aquele de *E. cloeziana*.

A persistência do benomyl em plantas de eucalipto não foi coincidente com plantas de olmo, nas quais o fungicida persistiu por um período de 110 (HOCK *et al.*, 1970) e 120 dias (BIEHN e DIMOND, 1971) após sua aplicação no solo. Ainda em olmo (SCHREIBER *et al.*, 1971), a quantidade de benomyl diminuiu entre o 30º e o 60º dias após o tratamento de solo e permaneceu constante até o 90º dia; os dados obtidos neste ensaio mostraram uma tendência de diminuição progressiva na quantidade de fungicida presente na planta, cessando a atividade do mesmo 60-67 dias após sua aplicação no solo.

Neste ensaio também foi demonstrado o efeito das diferentes doses de benomyl sobre o crescimento das plantas de eucalipto, sendo os resultados apresentados no Quadro 5.

As diferentes doses de benomyl não afetaram a altura das plantas, porém apresentaram efeito em relação ao peso de matéria fresca das mesmas.

Quanto à altura, embora as doses não apresentassem diferença estatística entre si e com a testemunha, os resul

Quadro 5 - Efeito de doses de benomyl sobre o desenvolvimento de plantas de *E. cloeziana*, avaliado em relação aos parâmetros altura e peso de matéria fresca, aos 60 dias após a semeadura.

	Doses				Testemunha
	8 g/m ²	4 g/m ²	2 g/m ²	1 g/m ²	(sem benomyl)
Peso (g)	14,4d	19,2bc	20,0abc	23,4a	21,8ab
Altura (cm)	22,4a	24,7a	25,3a	26,8a	24,4a

Médias, em cada linha, seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

tados obtidos mostraram que houve uma tendência da dose de 8 g/m² em provocar redução na altura, enquanto as doses de 2 g/m² e 1 g/m² em promover um estímulo.

Em relação ao peso, plantas crescidas em solo tratado com 8 g/m² apresentaram peso menor quando comparadas com as plantas testemunhas, desenvolvidas em solo sem benomyl. As doses de 2 g/m² e 1 g/m² não afetaram o peso das plantas, pois as mesmas não diferiram estatisticamente das plantas usadas como testemunhas; no entanto os resultados mostraram que a dose de 2 g/m² tende a afetar negativamente o peso das plantas, enquanto a dose de 1 g/m² tende a afetar de modo positivo.

Em observação visual feita durante a realização do ensaio, foi notado que as plantas crescidas no solo

tratado com 1 g/m^2 eram mais verdes e vigorosas quando comparadas com as plantas dos demais tratamentos; as plantas testemunhas apresentaram aspecto semelhante aquelas da dose de 1 g/m^2 . As plantas crescidas em solo tratado com 8 g/m^2 se mostraram menos vigorosas e com tonalidade verde menos intensa em relação as plantas testemunhas e aquelas dos demais tratamentos.

Sintomas de fitotoxidez foram observados para as doses de 8 g/m^2 e 4 g/m^2 . Os sintomas apareceram nas folhas na forma de clorose marginal e internerval, sendo mais frequentes nas plantas crescidas em solo tratado com 8 g/m^2 .

Os resultados, referentes ao efeito do benomyl sobre o desenvolvimento de plantas e a fitotoxidez, obtidos neste ensaio concordam com alguns trabalhos citados pela literatura e não são concordantes com outros, dependendo da dose do fungicida utilizada. Alguns trabalhos (FUCHS *et al*, 1970; ZARCNSKY e STIPES, 1969) mencionam que benomyl estimulou o crescimento de plantas medido em peso de matéria fresca. No entanto, no presente ensaio, nenhuma dose produziu este efeito, ao contrário, as doses de 8 g/m^2 e 4 g/m^2 provocaram diminuição na média do peso de plantas. Em relação à altura, os dados obtidos estão de acordo com SCHREIBER *et al* (1971) o qual cita que o fungicida não afetou o desenvolvimento de olmo, medido em altura. Benomyl causou fitotoxidez evidenciada por clorose foliar nas doses de 8 g/m^2 e 4 g/m^2 concordando com alguns trabalhos (BIEHN e DI

MOND, 1970; GRAY e SINCLAIR, 1970); nas doses de 2 g/m^2 e 1 g/m^2 não foram observados sintomas de fitotoxidez concordando também com outras citações (SMALLEY, 1971; ZARONSKY e STIPES, 1969).

ENSAIO IV - Avaliação da persistência do fungicida sistêmico aplicado na parte aérea de mudas de *E. cloeziana*.

Os resultados deste ensaio indicaram que houve variação entre a persistência do fungicida sistêmico e do protetor (Quadro 6, Figura 2).

A persistência do benomyl em folhas que sofreram o efeito de lavagem foi de 11 dias e em folhas não lavadas sua persistência foi de 14 dias; isto foi demonstrado em comparação com as plantas testemunhas, pois até estes períodos as mesmas diferiram estatisticamente das plantas tratadas com o fungicida.

Para o chlorothalonil a persistência foi de 9 dias nas folhas não lavadas, e variou de 5 a 9 dias, nas folhas que sofreram o efeito de lavagem. Neste último caso, no 5º e 7º dias após a pulverização não foi constatada diferença significativa entre plantas tratadas e testemunhas, porém, no 6º, 8º e 9º dias plantas tratadas diferiram significativamente das testemunhas. A partir do 10º dia não foi mais verificada diferença estatística entre as plantas tratadas e as testemunhas, mostrando que a partir deste período o fungicida perdeu seu efeito.

Quadro 6 - Persistência de benomyl e chlorothalonil aplicados em pulverização na parte aérea de plantas de *E. cloeziana*, 30 dias após a semeadura, avaliada em folhas destacadas e inoculadas com *Cylindrocladium* sp.

Dias após pulverização	Benomyl		Chlorothalonil		Testemunha (sem fungicida)
	Folhas lavadas	Folhas não lavadas	Folhas lavadas	Folhas não lavadas	
	----- % de área foliar doente -----				
1	7,8c	4,1c	32,1b	4,7c	97a
2	14,5b	1,8c	30,8b	4,8c	91a
3	14,0b	1,6c	26,3b	11,2b	93a
4	19,5bc	2,1d	40,8b	8,7cd	97a
5	31,1b	11,5b	48,0a	6,2b	98a
6	20,5bc	9,8cd	43,5b	8,1d	86a
7	34,5b	11,0c	48,5ab	25,1b	94a
8	30,2bc	15,2c	47,7b	40,2bc	91a
9	35,5b	18,5c	53,0b	53,0b	98a
10	31,6bc	33,1c	55,0ab	57,0ab	86a
11	39,0b	32,6b	55,0ab	51,5ab	93a
12	63,0ab	38,5b	68,0ab	65,5ab	99a
13	60,5ab	42,6b	57,0ab	63,0a	85a
14	72,0ab	54,1b	90,0ab	64,0ab	97a
15	88,0a	88,0a	87,0a	75,5a	94a
16	95,0a	98,0a	97,0a	96,0a	100a
17	90,0a	90,0a	93,0a	91,0a	93a
18	99,0a	92,0a	98,0a	97,0a	97a
19	91,0a	94,0a	98,0a	96,0a	95a
20	93,0a	91,0a	97,0a	97,0a	96a
21	92,0a	93,0a	97,0a	98,0a	97a

Na análise estatística os dados originais foram transformados em $\log_e(x+1)$. Médias, em cada linha, seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Figura 2 - Persistência de benomyl e chlorothalonil aplicados em pulverização na parte aérea de plantas de *E. cloeziana*, 30 dias após a semeadura, avaliada em folhas destacadas e inoculadas com *Cylindrococcidium* sp.

A persistência do benomyl por 11 dias em folhas lavadas e por 14 dias em folhas não lavadas mostrou que mesmo sendo, em parte, absorvido pela planta o fungicida sofreu a ação da lavagem. Isto foi demonstrado pelo fato do fungicida perder seu efeito aproximadamente 30% mais cedo e pelos níveis de doença serem mais altos nas folhas lavadas do que nas não lavadas, indicando que este sistêmico aplicado na folha deve atuar, em parte, como protetor. Estes resultados são concordantes com citações feitas por EDGINGTON *et al* (1980) as quais revelam que para alguns sistêmicos uma parte do fungicida aplicado nas folhas é absorvida, permanecendo o restante na superfície atuando como protetor.

No caso do chlorothalonil, a sua persistência em relação a testemunha foi de 9 dias, independente da mesma ser avaliada em folhas lavadas ou não lavadas, sugerindo que o fungicida não sofreu ação da lavagem. No entanto, até o 6º dia após a pulverização os resultados mostraram estatisticamente que o efeito do fungicida é alterado pela lavagem, pois os níveis de doença nas folhas lavadas é bem maior que aqueles nas folhas não lavadas.

Considerando-se que a irrigação de um viveiro comercial de eucalipto é feita por aspersão e que, portanto, as folhas são constantemente lavadas, é interessante comparar os efeitos do fungicida sistêmico e do protetor em relação as avaliações feitas nas folhas lavadas. Benomyl (0,5 g/l) e

chlorothalonil (2,0 g/l) apresentaram persistência similar, e os níveis de doença medidos para ambos foram praticamente os mesmos, mostrando que o sistêmico e o protetor atuaram de maneira semelhante, apesar de terem sido usados em dosagens diferentes. É possível que o benomyl tenha sido pouco absorvido pelas folhas e que o seu efeito tenha sido principalmente devido a sua ação protetora na superfície das mesmas.

BARNARD (1981) relatou que num teste realizado com 7 fungicidas, benomyl e/ou chlorothalonil foram aqueles que melhor controlaram a doença em condições de viveiro. Os resultados obtidos neste ensaio estão de acordo com este autor, pois a doença foi controlada tanto pelo sistêmico como pelo protetor. Esta constatação indica também que estes fungicidas podem ser utilizados alternadamente, evitando, deste modo, o surgimento de novas raças do patógeno resistentes aos fungicidas.

Tomando-se como base os resultados obtidos nos diferentes ensaios que compõem este trabalho, sugere-se o seguinte esquema de tratamento químico visando o controle de *Cylindrocladium* sp. em viveiros comerciais de eucalipto: incorporação ao solo de benomyl (1 g/m^2) em pré-semeadura e pulverização foliar semanal alternada com benomyl (0,5g/l) e chlorothalonil (2 g/l) na base de 1.000 litros/ha, a partir da 8ª semana após a semeadura.

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

- Benomyl é eficientemente absorvido e translocado em plantas de *E. grandis* e de *E. cloeziana*, quando incorporado ao solo.

- A persistência de benomyl, aplicado ao solo, varia de 53 a 60 dias em plantas de *E. cloeziana*, dependendo da dose do fungicida utilizada.

- A persistência de benomyl, utilizado em pulverização foliar, em plantas de *E. cloeziana* é de 11 dias, enquanto chlorothalonil pode persistir por até 9 dias; isto quando a irrigação das plantas é feita no solo somente por infiltração.

6. LITERATURA CITADA

ABRAHÃO, J. 1949. Podridão do colo do eucalipto. O Biológico 15:165-166.

AMARAL, J.F. 1942. Fungo (*Cylindrocladium*) atacando mudas de *Eucalyptus*. O Biológico 8:148.

ANDRADE, A.M.; LOPES, C.A. & REIFSCHNEIDER, F.J. 1983. Efeito de fungicidas na inibição de *Cylindrocladium clavatum* *in vitro* e *in vivo* em tubérculos de batata. Fitopatologia Brasileira 8:403-408..

ARRUDA, S.C. 1940. Estiolamento de mudinhas (*Cylindrocladium*) do eucalipto. O Biológico 6:161-162.

ARRUDA, S.C. 1943. Observações sobre algumas doenças do eucalipto no Estado de São Paulo. O Biológico 9:140-144.

- BARNARD, E.L. 1981. *Cylindrocladium scoparium* on *Eucalyptus* spp. in a South Florida tree nursery: damage and fungicidal control. *Phytopathology* 71:201.
- BARNES, G.L. 1971. Effectiveness of extended interval applications of benomyl for control of pecan scab. *Plant Disease Reporter* 55:711-713.
- BATISTA, A.C. 1951. *Cylindrocladium scoparium* Morgan var. *brasiliensis* Batista e Ciferri, um novo fungo do eucalipto. *Bol. Soc. Agric. Ind. Com.* 18:188-198.
- BAUDE, F.J.; PEASE, H.L. & HOLT, R.F. 1974. Fate of benomyl in field soil and turf. *J. Agric. Food Chem.* 22:413-418.
- BIEHN, W.L. 1970. Control of *Verticillium* wilt of potato by soil treatment with benomyl. *Plant Disease Reporter* 54:171-173.
- BIEHN, W.L. & DIMOND, A.E. 1970. Reduction of tomato *Fusarium* wilt symptoms by benomyl and correlation with a bioassay of fungitoxicant in benomyl treated plants. *Plant Disease Reporter* 54:12-14.
- BIEHN, W.L. e DIMOND, A.E. 1971. Prophylactic action of benomyl against dutch elm disease. *Plant Disease Reporter* 55:179-182.
- BROWDER, L.E. 1964. A modified detached leaf culture technique for study of cereal rusts. *Plant Disease Reporter* 48:906-908.

- BYRDE, R.J.W. & JORDAN, V.W.L. 1977. Results in practice. IV-Fruit Crops. In: MARSH, R.W. (Ed.) Systemic Fungicides. London. Longman, p.274-293.
- CIMANOWSKI, J.; MASTERNAK, A. & E. MILLIKAN, D.F. 1970. Effectiveness of benomyl for controlling apple powdery mildew and cherry leaf spot in Poland. Plant Disease Reporter 54:81-82.
- CLEMONS, G.P. & SISLER, H.D. 1969. Formation of a fungitoxic derivative from Benlate. Phytopathology 59:705-706.
- CLINE, S. & NEELY, D. 1981. Monitoring of residues of benomyl on leaves and nut hulls of black walnut. Plant Disease 65: 961-963.
- CROWDY, S.H. 1971. The control of leaf pathogens using conventional and systemic fungicides. In: PREECE, T.F. e DICKINSON, C.H. (eds.) Ecology of leaf surface microorganisms. London. Academic Press, p.395-407.
- CRUZ, B.P.B. & FIGUEIREDO, B.M. 1961. Importância do fungo *Cylindrocladium* na cultura do eucalipto. O Biológico 27: 106-108.
- DELP, C.A. & KLOPPING, H.L. 1968. Performance attributes of a new fungicide and mite ovicide candidate. Plant Disease Reporter 52:95-99.

- EDGINGTON, L.V.; MARTIN, R.A.; BRULN, G.C. & PARSONS, I.M.
1980. Systemic fungicides: a perspective after 10 years.
Plant Disease 64:19-23.
- ENGELHARD, A.W. 1971. Efficacy of benzimidazole dips, drenches
and sprays for the control of *Cylindrocladium* on azalea.
Plant Disease Reporter 55:679-682.
- ERWIN, D.C. 1973. Systemic fungicides: disease control,
translocation and mode of action. Annual Review of Phyto-
pathology 11:389-422.
- FUCHS, A.; HOMANS, A.L. & DE VRIES, F.W. 1970. Systemic
activity of benomyl against *Fusarium* wilt of pea and tomato
plants. Phytopathologische Zeitschrift 69:330-343.
- GRAY, L.E. & SINCLAIR, J.B. 1970. Uptake and translocation
of systemic fungicides by soybean seedlings. Phytopathology
60:1486-1488.
- HINE, R.B.; JOHNSON, D.L. & WENGER, C. 1969. The persistence
of two benzimidazole fungicides in soil and their fungistatic
activity against *Phymatotrichum omnivorum*. Phytopathology
59:798-801.
- HOCK, W.K.; SCHREIBER, L.R. & ROBERTS, B.R. 1970. Factors
influencing uptake, concentration and persistence of
benomyl in american elm seedlings. Phytopathology 60:1619-
1622.

- HOMECHIN, M. & KRÜGNER, T.L. 1980. Influência de diferentes concentrações de benomyl no crescimento micelial de *Cylindrocladium clavatum*. Summa Phytopathologica 6:31.
- HORST, R.K. & HOITINK, H.A.J. 1968. Occurrence of *Cylindrocladium* blights on nursery crops and control with fungicide 1991 on azalea. Plant Disease Reporter 52:616.
- KAASTRA - HOWELER, L.H. & GAMS, W. 1973. Preliminary study on the effect of benomyl on the fungal flora in a greenhouse soil. Neth. J. Plant Pathol. 79:156-158.
- KO, W.H.; LIN, H. & KUNIMOTO, R.K. 1975. A simple method for determining efficacy and weathrability of fungicides on foliage. Phytopathology 1023-1025.
- KRÜGNER, T.L. 1980. Doenças do eucalipto. In: GALLI, F. (Coord.) Manual de Fitopatologia. Vol. II. São Paulo. Ed. Agron. Ceres. p. 275-296.
- MAUDE, R.B. 1977. Results in practice - III Vegetable crops. In: MARSH, R.W. (Ed.) Systemic Fungicides. London. Longman. p.259-274.
- MIGNUCCI, J.S. 1978. Development of soybean leaf cultures for maintenance and study of *Microsphaera diffusa*. Plant Disease Reporter 62:271-273.

- MILLER, W.A. & ROY, K.W. 1982. Effects of benomyl on the colonization of soybean leaves, pods and seeds by fungi. Plant Disease 66:918-920.
- MORAES, S.A. & SALGADO, C.L. 1982. Utilização da técnica de folhas destacadas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) para inoculações com *Cercospora arachidicola* (Hori) e *Cercospora personata* (Berk e Curt.) Ell. e Ev. Summa Phytopathologia 8:39-55.
- NICHOLSON, J.F.; SINCLAIR, J.B.; WHITE, J.C. & KIRKPATRICK, B.L. 1972. Upward and lateral translocation of benomyl in strawberry. Phytopathology 62:1183-1185.
- PEEPLES, J.L. 1974. Microbial activity in benomyl treated soils. Phytopathology 64:857-860.
- PELLISSIER, M.; LACASSE, N.L. e COLE, H. 1971. Uptake of benomyl by bean plants. Phytopathology 61:132.
- PETERSON, C.A. & EDGINGTON, L.V. 1969a. Quantitative estimation of the fungicide benomyl using a bioautograph technique. J. Agric. Food Chem. 17:898-899.
- PETERSON, C.A. & EDGINGTON, L.V. 1969b. Transport of the systemic fungicide, benomyl, in bean plants. Phytopathology 59:475-478.

- PETERSON, C.A. & EDGINGTON, L.V. 1970. Transport of benomyl into various plant organs. *Phytopathology* 60:91-92.
- RAWLINS, T.E. & BOOTH, J.A. 1968. Tween 20 as an adjuvant for systemic soil fungicides for *Verticillium* in cotton. *Plant Disease Reporter* 52:944-945.
- REIS, E.M. & KIMATI, H. 1974. Cultivo de folhas de soja [*Glycine max* (L.) Mer.] destacadas, para testes fitopatológicos. *In*: Reunião Conjunta de Pesquisa, p. 140.
- SANTOS, M.M. 1984. Efeito de fungicidas sobre os fungos ectomicorrízicos *Pisolithus tinctorium* e *Telephora terrestris* e ação sistêmica de benomyl em mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. Tese de Doutorado. ESALQ/USP. 87p.
- SANTOS, M.M. & KRÜGNER, T.L. 1985. Ação sistêmica de benomyl em mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. *Fitopatologia Brasileira* 10:262.
- SCHREIBER, L.R.; HOCK, W.K. & ROBERTS, B.R. 1971. Influence of planting media and soil sterilization on the uptake of benomyl by american elm seedlings. *Phytopathology* 61:1512-1515.
- SIMS, J.J.; MEE, H. & ERWIN, D.C. 1969. Methyl 2-benzimidazole carbamate, a fungitoxic compound isolated from cotton plants treated with methyl 1-(butylcarbamoyl) 2-benzimidazole carbamate (benomyl). *Phytopathology* 59:1775-1776.

- SMALLEY, E.B. 1971. Prevention of dutch elm disease in large nursery elms by soil treatment with benomyl. *Phytopathology* 61:1351-1354.
- SMALLEY, E.B. 1977. Results in practice. V. Forestry. In: MARSH, R.W. (ed.) *Systemic Fungicides*. London. Longman, p.294-319.
- WAIN, R.L. & CARTER, G.A. 1977. Nomenclature and definitions. In: MARSH, R.W. (ed.) *Systemic Fungicides*. London. Longman, p. 1-5.
- WILCOXSON, R.D.; ATIF, A.H. & SKOVMAND, B. 1974. Slow rusting of wheat varieties in the field correlated with stem rust severity on detached leaves in the greenhouse. *Plant Disease Reporter* 58:1085-1087.
- ZARONSKY, C. & STIPES, R.J. 1969. Some effects on growth and translocation of thiabendazole and methyl(1-butylcarbamoyl)-2-benzimidazole carbamate applied to *Ulmus americana* seedlings. *Phytopathology* 59:1562.