

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SANTA
CATARINA - CÂMPUS URUPEMA
ESPECIALIZAÇÃO EM FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO

ARTHUR OLIVEIRA SOUZA

**AÇÃO *IN VITRO* DE TIOFANATO-METÍLICO NO CONTROLE DE PATÓGENOS
DE PODRIDÃO CARPELAR EM MACIEIRA**

Urupema, SC

2026

Arthur Oliveira Souza

**AÇÃO *IN VITRO* DE TIOFANATO-METÍLICO NO CONTROLE DE PATÓGENOS DE
PODRIDÃO CARPELAR EM MACIEIRA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao Instituto Federal de Santa Catarina, como
requisito parcial à obtenção do título de
Especialista em Fruticultura de Clima
Temperado.

Orientador: Dr. Rogerio de Oliveira Anese

Co-orientador: Dr. Felipe Augusto Moretti
Ferreira Pinto

Urupema, SC 2026

Dados Internacionais de Catalogação (CIP)
Biblioteca IFSC Câmpus Urupema
Bibliotecária Paola A. Ávila Soares CRB14/1730

S729

Souza, Arthur Oliveira

Ação *in vitro* de tiofanato-metílico no controle de patógenos de podridão carpelar em macieira/Arthur Oliveira Souza; orientador Rogerio de Oliveira Anese; Co-orientador Felipe Augusto Moretti Ferreira Pinto. Urupema, 2026. 25 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Fruticultura de Clima Temperado) -- Instituto Federal de Santa Catarina, Câmpus Urupema, 2026.

1. *Malus domestica*. 2. benzimidazol. 3. fungos. I. Anese, Rogerio de Oliveira, orient. II. Felipe Augusto Moretti Ferreira Pinto, co-orient. III. Título.

CDD 634.11

Arthur Oliveira Souza

**AÇÃO *IN VITRO* DE TIOFANATO-METÍLICO NO CONTROLE DE PATÓGENOS DE
PODRIDÃO CARPELAR EM MACIEIRA**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Instituto Federal de
Santa Catarina, como requisito parcial à
obtenção do título de Especialista em
Fruticultura de Clima Temperado.

Aprovado em 06 de agosto de 2026.

Rogério de Oliveira Anese Dr. (IFSC – Urupema)

Presidente/Orientador

Fernando Domingo Zinger Dr. (IFSC – Lages)

Avaliador

Tiago Miqueloto Dr. (IFSC – Canoinhas)

Avaliador

Urupema, SC

2026

RESUMO

A podridão carpelar representa um desafio fitossanitário expressivo na cultura da macieira (*Malus domestica*), sendo causada por diversas espécies de fungos. Falhas no manejo fitossanitário, particularmente durante o estágio fenológico da floração, período de menor disponibilidade de ativos químicos, podem favorecer a seleção de isolados com resistência adquirida, comprometendo a sustentabilidade da cadeia produtiva. O objetivo do trabalho foi avaliar a sensibilidade *in vitro* de isolados fúngicos causadores de podridão carpelar ao fungicida tiofanato-metílico. O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Estação Experimental da Epagri de São Joaquim (EESJ), durante o ano de 2026. Adotou-se o delineamento experimental Inteiramente Casualizado (DIC), com três tratamentos e quatro repetições. Os patógenos utilizados no experimento foram isolados de frutos de produtores da região. O fungicida foi incorporado ao meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) para atingir as concentrações finais de 0 g L⁻¹ (testemunha), 420 mg L⁻¹ (dose recomendada pelo fabricante) e 840 mg L⁻¹ (dobro da dose). Os parâmetros analisados incluíram a taxa de crescimento micelial e a liberação de esporos. As avaliações do crescimento micelial foram realizadas a cada 48 horas, por meio da medição do diâmetro das colônias, e contagem de esporos após 40 dias de inoculação. Observou-se que, os isolados de *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. e *Neofabraea* spp. apresentaram crescimento micelial e esporulação ativa para as doses 420 mg L⁻¹ e 840 mg L⁻¹. O isolado de *Colletotrichum* spp. manteve o crescimento micelial e esporulação para a dose comercial, enquanto que na dose dobrada não observou-se esporulação. Por outro lado, o isolado de *Botryosphaeria* spp. foi o único a apresentar sensibilidade ao fungicida, independentemente da dose utilizada. Conclui-se que os isolados avaliados apresentam respostas distintas ao tiofanato-metílico, com resistência de *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp., *Alternaria* spp. e *Neofabraea* spp., enquanto *Botryosphaeria* spp. apresenta sensibilidade ao fungicida, evidenciando a variabilidade de resposta entre os fungos avaliados.

Palavras-chave: *Malus domestica*; benzimidazol; fungos.

ABSTRACT

Carpel rot represents a significant phytosanitary challenge in the cultivation of apple trees (*Malus domestica*) being caused by several species of fungi. Failures in phytosanitary management particularly during phenological stage of flowering – a period of lower availability of chemical actives – can favor the selection of isolates with acquired resistance compromising the sustainability of the production chain. The objective of this study was to evaluate the in vitro sensitivity of fungal isolates that cause carpel rot to the fungicide thiophanate-methyl. The experiment was conducted at Phytopathology Laboratory of Epagri Experimental Station of São Joaquim (EESJ) during the year 2026. Completely Randomized (DIC) experimental design was adopted with three treatments and four replications. The pathogens used in the experiment were isolated from fruits of producers in the region. Fungicide was incorporated into the potato-dextrose-agar (BDA) culture medium to reach the final concentrations of 0 g L⁻¹ (control), 420 mg L⁻¹ (manufacturer's recommended dose) and 840 mg L⁻¹ (double the dose). Parameters analyzed included mycelial growth rate and spore release. Mycelial growth evaluations were performed every 48 hours by measuring the diameter of the colonies and spore count after 40 days of inoculation. It was observed that the isolates of *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. and *Neofabraea* spp. showed mycelial growth and active sporulation for the doses 420 mg L⁻¹ and 840 mg L⁻¹. *Colletotrichum* spp. isolate maintained mycelial growth and sporulation for the commercial dose while in the doubled dose no sporulation was observed. On the other hand, the isolate of *Botryosphaeria* spp. was the only one to present sensitivity to the fungicide, regardless of the dose used. It is concluded that the isolates evaluated present distinct responses to thiophanate-methyl with resistance for *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp., *Alternaria* spp. and *Neofabraea* spp. while *Botryosphaeria* spp. presented sensitivity to the fungicide evidencing variability of response among the fungi evaluated.

Keywords: *Malus domestica*; benzimidazole; fungi.

LISTA DE IMAGENS

Figura 1– Sintomas de podridão interna observados em seções transversais de maçã (<i>Malus domestica</i>) utilizados para o isolamento dos patógenos.....	10
Figura 2 - Aspecto visual das colônias fúngicas isoladas e cultivadas em meio de cultura BDA.	11
Figura 3 - Metodologia de inoculação de discos de micélio fúngico para o ensaio de sensibilidade <i>in vitro</i>	12
Figura 4 – Mensuração do crescimento micelial fúngico com o auxílio de paquímetro digital.	13
Figura 5 - Visualização e contagem de esporos fúngicos em câmara de Neubauer	14

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Índice de velocidade de crescimento micelial	17
Gráfico 2 - Esporulação dos patógenos por dose de tratamento.....	18

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 MATERIAL E MÉTODOS	10
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
3.1 SENSIBILIDADE DO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO MICELIAL (IVCM) AO TIOFANATO-METÍLICO	16
3.2 DINÂMICA DE ESPORULAÇÃO <i>IN VITRO</i> SOB ESTRESSE QUÍMICO.....	17
3.3 USO DE TIOFANATO-METÍLICO, MANEJO FITOSSANITÁRIO E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA FÚNGICA.....	19
4 CONCLUSÃO.....	20
REFERÊNCIAS.....	21

1 INTRODUÇÃO

A maçã (*Malus domestica*) é uma das frutas de clima temperado de maior relevância econômica global, uma produção que supera 95 milhões de toneladas anuais (FAORO, 2022; FAOSTAT, 2024). O Brasil consolida-se como um produtor estratégico no Hemisfério Sul, alcançando aproximadamente 1,2 milhão de toneladas por ano (IBGE, 2024). Essa produção concentra-se quase integralmente (mais de 99%) na Região Sul do país (IBGE, 2024). A Serra Catarinense destaca-se como o principal polo produtor nacional, com destaque para o município de São Joaquim, beneficiado por condições edafoclimáticas ideais. Dados da Epagri/Cepa indicam que a região possui cerca de 14 mil hectares de pomares e 2.600 produtores, gerando cerca de 370 mil toneladas por safra e movimentando mais de R\$ 1,5 bilhão anualmente (EPAGRI, 2024).

Apesar do elevado patamar produtivo, a ocorrência de doenças fúngicas representa um dos maiores entraves à obtenção de frutos com qualidade superior (ARAUJO et al., 2016). Entre as doenças, as podridões pós-colheita causam severos prejuízos econômicos durante o armazenamento e comercialização, comprometendo a competitividade nos mercados interno e externo (SHOLBERG; CONWAY, 2004; WENNEKER; THOMMA, 2020). No Brasil, essas doenças geram perdas estimadas entre 5% e 20%, podendo atingir níveis críticos de até 45% em safras específicas, representando prejuízos anuais superiores a R\$ 150 milhões (CZERMAINSKI et al., 2002; OGOSHI et al., 2019).

Entre as podridões pós-colheita, a podridão carpelar é especialmente desafiadora devido ao seu comportamento latente (WENNEKER; THOMMA, 2020). A infecção ocorre nos tecidos florais durante o florescimento, mas os patógenos permanecem dormentes durante o crescimento e desenvolvimento dos frutos, manifestando sintomas visíveis apenas meses depois, podendo ocorrer com a maturação dos frutos, ainda no pomar, durante o armazenamento refrigerado ou na comercialização (KRETZSCHMAR, 2004; WENNEKER; THOMMA, 2020). Sua etiologia é complexa e envolve diversos gêneros fúngicos, como *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Neonectria* spp., *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp., *Neofabraea* spp., *Penicillium* spp. e *Botryosphaeria* spp. (SANHUEZA et al., 2002; ARAUJO et al., 2016; OGOSHI et al., 2019). A predominância dessas espécies varia conforme a cultivar, localização e o sistema de manejo, exigindo programas de controle específicos devido às diferentes sensibilidades dos patógenos aos fungicidas (OGOSHI et al., 2019).

O controle químico é a base do manejo fitossanitário, porém enfrenta limitações críticas durante o florescimento da macieira. A escolha de ingredientes ativos nesse período é restrita pela necessidade de preservar os insetos polinizadores (HELLER et al., 2020) e evitar distúrbios fisiológicos, como o *russetting* (rugosidade na epiderme) (CAMILO; DENARDI, 2001; BARIĆ; PAJAČ; FRANIN, 2009). Nesse contexto, o tiofanato-metílico destaca-se como uma das principais ferramentas para o controle preventivo de infecções florais e podridões pós-colheita (BONTEMPO; MENDES, 2024).

Na cultura da macieira, o tiofanato-metílico possui importância estratégica por ser recomendado em momentos críticos como, florescimento, queda de pétalas para proteger as cicatrizes florais, após precipitação de granizo para a proteção de ferimentos e queda das folhas para o manejo do cancro europeu (*Neonectria ditissima*) (ALVES; CZERMAINSKI, 2019).

Esse uso intensivo e repetitivo eleva a pressão de seleção sobre as populações de fungos, favorecendo o surgimento de isolados resistentes, fenômeno já documentado para os patógenos *Venturia inaequalis*, *Botrytis* spp. e *Colletotrichum* spp. (MOREIRA et al., 2017; GHINI, 1989). Apesar da resistência aos benzimidazóis ser amplamente relatada na literatura internacional e em algumas doenças da macieira no Brasil, ainda são escassos os dados sobre a sensibilidade dos agentes específicos da podridão carpelar nos pomares nacionais. Essa lacuna é mais evidente na região de São Joaquim (SC), onde a aplicação do fungicida é frequente e o monitoramento regional é essencial para preservar a eficiência desse ativo (MOREIRA et al., 2017).

Diante desse cenário, o objetivo do trabalho foi avaliar, *in vitro*, a sensibilidade de isolados de *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp., *Botryosphaeria* spp., *Alternaria* spp. e *Neofabraea* spp. associados à podridão carpelar da macieira, ao fungicida tiofanato-metílico. Busca-se, assim, fornecer subsídios científicos para o aprimoramento das estratégias de manejo integrado e para o uso mais racional de defensivos agrícolas na fruticultura de clima temperado (MOREIRA et al., 2017).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) – Estação Experimental de São Joaquim, SC. O isolamento fúngico foi obtido a partir de amostras diversificadas de frutos provenientes de pomares comerciais da região de São Joaquim.

Após o recebimento, os frutos foram submetidos à uma bissecção transversal (SILVEIRA, 2011). As metades expostas foram agrupadas de acordo com a similaridade visual das podridões (Figura 1), sendo posteriormente codificadas para o processo de isolamento (SILVEIRA, 2011). O isolamento do patógeno foi realizado mediante a retirada de quatro fragmentos da região de transição (zona de fronteira entre o tecido sadio e o infectado), os quais foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) acrescido de bactericida (PERGHER et al., 2022; SILVEIRA, 2011).

Figura 1– Sintomas de podridão interna observados em seções transversais de de maçãs (*Malus domestica*) utilizadas para o isolamento dos patógenos.

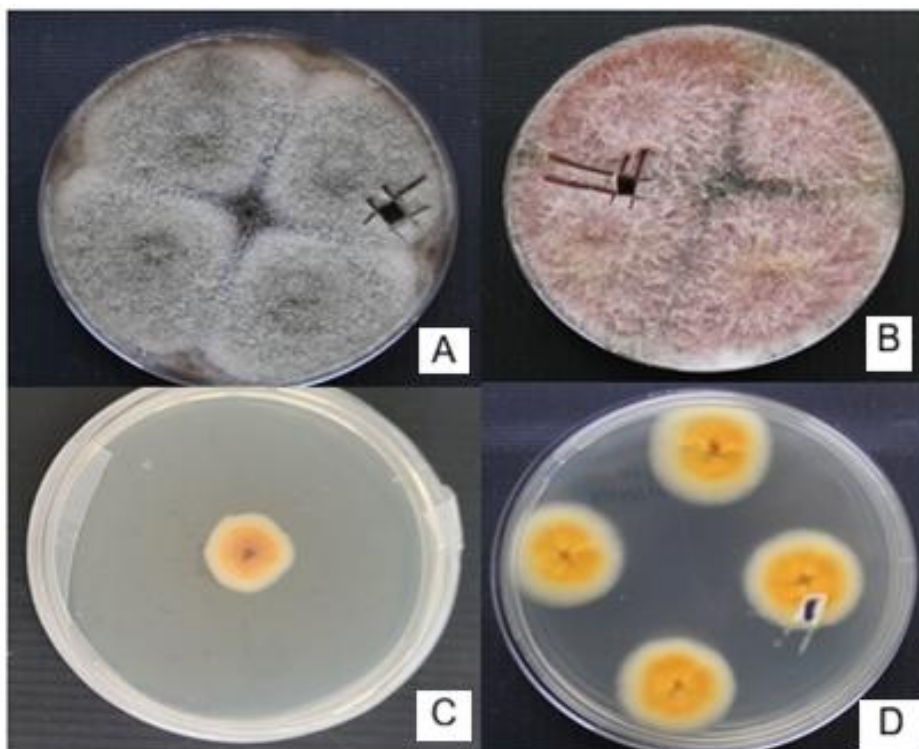


Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

As placas foram mantidas em incubadoras do tipo BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) a 20 °C, sob fotoperíodo de 12 horas (PERGHER et al., 2022; BOGO et al., 2018). Após o desenvolvimento da colônia, os isolados fúngicos foram identificados com base em características macroscópicas do crescimento micelial e análises microscópicas das estruturas de esporulação, sendo então repicados (Figura 2) e mantidos sob as mesmas condições de incubação (DING et al., 2024; PERGHER et al., 2022; ZIPPERER, 2020). Os fungos utilizados no experimento foram *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp., *Botryosphaeria* spp., *Alternaria* spp. e *Neofabraea* spp. (DING et al.,

2024; LEONARDI et al., 2023; BOGO et al., 2018; SANHUEZA et al., 2002).

Figura 2 - Aspecto visual das colônias fúngicas de isolados cultivados em meio de cultura BDA.



A: Colônia de fungo *Alternaria* spp.; B: Colônia de fungo *Fusarium* spp.; C: Placa repicada com *Neofabraea* spp.; D: Colônia de fungo *Neofabraea* spp. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

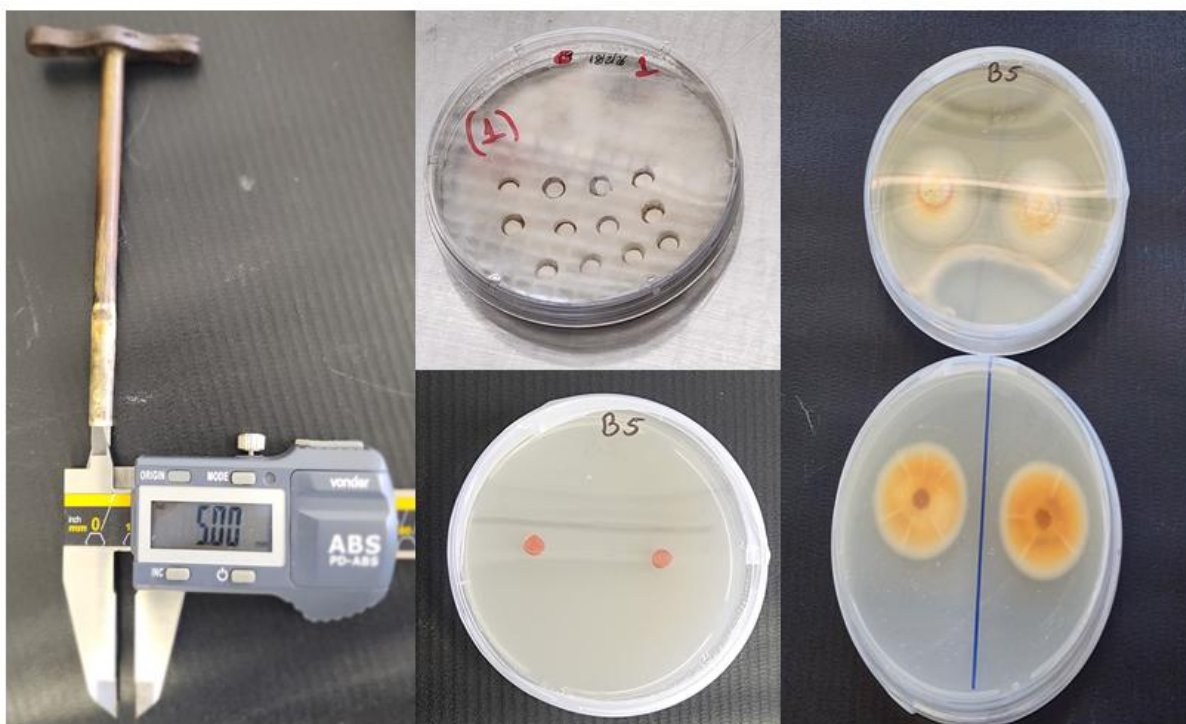
Para o experimento *in vitro*, o meio de cultura foi preparado segundo as recomendações do fabricante (Kasvi®), na proporção de 39 g L⁻¹ de água destilada (BONTEMPO; MENDES, 2024). Para o preparo do meio de cultura base e das soluções de diluição, foram utilizados três frascos Erlenmeyer [um contendo 600 mL de BDA (testemunha) e dois contendo 590 mL de BDA (para o preparo das doses de tiofanato-metílico)] e, paralelamente, dois tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada cada. Todos os recipientes foram submetidos à autoclavagem a 120 °C por 20 minutos para a esterilização e dissolução do meio (BONTEMPO; MENDES, 2024). Após a autoclavagem, em câmara de fluxo laminar, os frascos de BDA foram resfriados a aproximadamente 45 °C (BONTEMPO; MENDES, 2024; BOGO et al., 2018).

Em seguida, os tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada estéril foram utilizados para a diluição prévia do fungicida. Esta solução concentrada foi imediatamente incorporada aos frascos de BDA com o bactericida (1 mL bactericida para 100mL de BDA) (10.000 unidades de penicilina e 10 mg de estreptomicina mL⁻¹; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA; Cat. Nº P4333), obtendo-se as concentrações finais

de 420 mg L⁻¹ (dose recomendada) e 840 mg L⁻¹ (dobro da dose recomendada) (BONTEMPO; MENDES, 2024; BOGO et al., 2018). Alíquotas de 20 mL do meio final preparado foram vertidas em cada placa de Petri estéril. Os tratamentos foram identificados em A (testemunha/controle), B (dose recomendada) e C (dobro da dose), com as placas numeradas de 1 a 5, correspondentes ao patógeno inoculado.

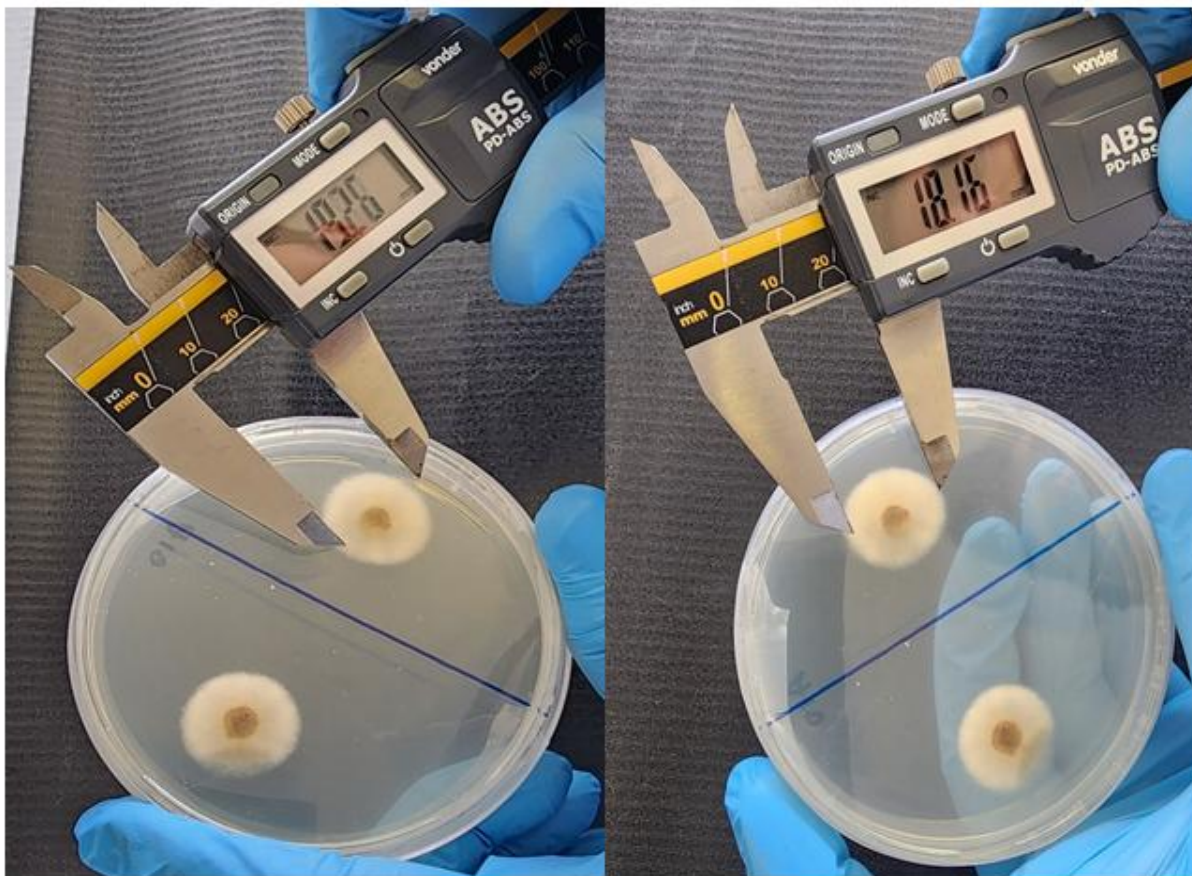
Após a completa solidificação do meio, discos do micélio fúngico com 5 mm de diâmetro foram transferidos para as placas (Figura 3) (dois discos por placa, dispostos a aproximadamente 1 cm da borda) (DING et al., 2024). As placas foram vedadas com filme plástico (Parafilm®) e incubadas a 20°C com fotoperíodo de 12 horas (BOGO et al., 2018). Avaliou-se o crescimento micelial a cada 48 horas, logo após o início do desenvolvimento das colônias. O diâmetro colonial foi determinado pela média de duas medições em eixos perpendiculares (Figura 4) por unidade experimental (BOGO et al., 2018; CASTELLAR, 2019). As medidas foram encerradas quando o crescimento do tratamento testemunha atingiu a borda das placas de Petri.

Figura 3 - Metodologia de inoculação de discos de micélio fúngico para o ensaio de sensibilidade in vitro.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Figura 4 – Mensuração do crescimento micelial fúngico com o auxílio de paquímetro digital.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

O Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) foi calculado utilizando-se a Equação 1:

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

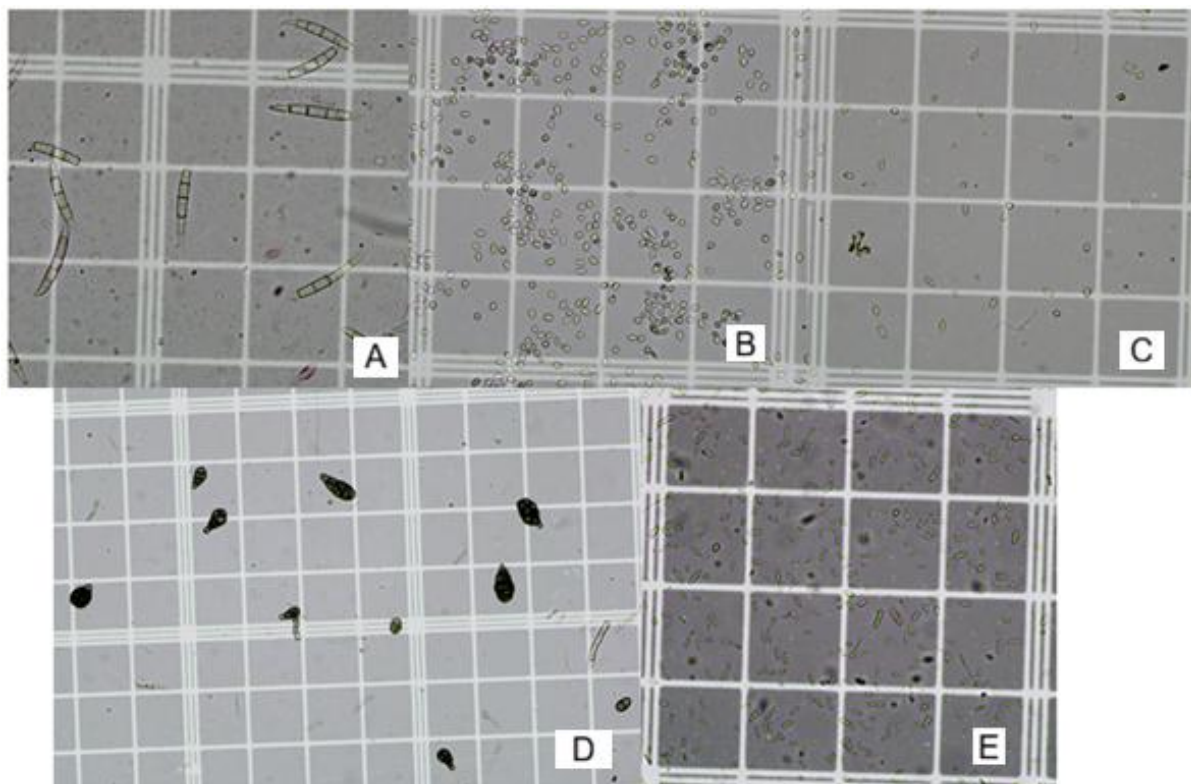
Onde:

- D = diâmetro médio atual da colônia (em mm);
- Da = diâmetro médio da colônia obtido na leitura anterior (em mm);
- N= número total de dias após a inoculação.

A quantificação da esporulação foi realizada aos 40 dias após a inoculação do disco do micélio. Para isso, adicionaram-se 15mL de água destilada estéril em cada placa, procedendo-se à raspagem da colônia com o auxílio de uma alça de Drigalski para a liberação dos esporos (PERGHER et al., 2022; CASTELLAR, 2019). A suspensão

obtida foi homogeneizada e uma alíquota de 80µL foi transferida para a câmara de Neubauer (PERGHER et al., 2022). A contagem dos esporos foi realizada em microscópio óptico, (figura 5) efetuando-se duas leituras por placa de Petri (PERGHER et al., 2022).

Figura 5 - Visualização e contagem de esporos fúngicos em câmara de Neubauer.



A: *Fusarium* spp.; B: *Colletotrichum* spp.; C: *Botryosphaeria* spp.; D: *Alternaria* spp.; E: *Neofabraea* spp. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

O delineamento experimental utilizado foi o Inteiramente Casualizado (DIC) em arranjo fatorial 3 (tres doses do produto) x 5 (cinco diferentes espécies de fungos), com quatro repetições por tratamento (CASTELLAR, 2019; SILVEIRA, 2011). A unidade experimental foi constituída por uma placa de Petri de 8 cm de diâmetro dividida ao meio, contendo o meio BDA acrescido das respectivas doses do produto testado. Os dados obtidos foram inicialmente submetidos aos testes de Bartlett (1937) e Shapiro & Wilk (1965) para verificar a homogeneidade das variâncias e a normalidade dos resíduos, respectivamente. Como todos os dados atenderam aos pressupostos do modelo normal, foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), utilizando o programa estatístico Sisvar.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tiofanato-metílico é um fungicida sistêmico pertencente ao grupo dos benzimidazóis (precursor de carbendazim), cujo mecanismo de ação é estritamente sítio-específico (BONTEMPO & MENDES, 2024; KREYCI, 2016; MICHEREFF, 2001). Ele atua ligando-se à β -tubulina, bloqueando a segregação cromossômica durante a mitose celular (PERGHER et al., 2022; SARTORI, 2007). Mutações no gene β -tubulina frequentemente resultam em substituições de aminoácidos nos códons 198 (ácido glutâmico por alanina, glicina ou lisina) ou 200 (fenilalanina por tirosina) — alterando a conformação do sítio de ligação, reduzindo drasticamente a afinidade da molécula pelo fungicida (DING et al., 2024; MARTIN, 2021; FRAC, 2019).

O histórico de manejo fitossanitário na cultura da macieira na Serra Catarinense fundamenta-se no uso intensivo e crônico de benzimidazóis, aplicados predominantemente em períodos críticos da cultura, como o florescimento e a queda de pétalas. Essa exposição contínua exerceu severa pressão de seleção de diferentes isolados de fungos, entre eles, os responsáveis por podridões como a podridão carpelar. Como a podridão carpelar possui uma etiologia complexa envolvendo uma diversidade de patógenos, a existência de isolados resistentes de *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp., *Alternaria* spp. e *Neofabraea* spp., acaba comprometendo a estratégia de controle químico com tiofanato-metílico.

Esses isolados resistentes são capazes de sobreviver em estado de latência no fruto ao longo do ciclo de campo, manifestando-se de forma agressiva durante a fase de armazenamento em pós-colheita, período em que as medidas de controle curativo são limitadas (WENNEKER; THOMMA, 2020; OGOSHI et al., 2019; BOGO et al., 2018). O uso repetitivo de tiofanato-metílico nos pomares da região produtora — ainda que respeitando o limite legal de até três aplicações por ciclo biológico da cultura — representa uma prática de elevado risco fitossanitário devido à severa pressão de seleção direcionada exercida sobre subpopulações resistentes de *Alternaria* spp. e *Neofabraea* spp. (DING et al., 2024; BOGO et al., 2018).

Houve interação entre isolado e concentração para as variáveis índice de velocidade de crescimento micelial e esporulação in vitro (Gráficos 1 e 2). A existência dessa interação indica que a eficácia do fungicida é estritamente dependente do isolado avaliado, evidenciando respostas biológicas heterogêneas entre os fungos causadores da podridão carpelar em macieiras (*Malus domestica*).

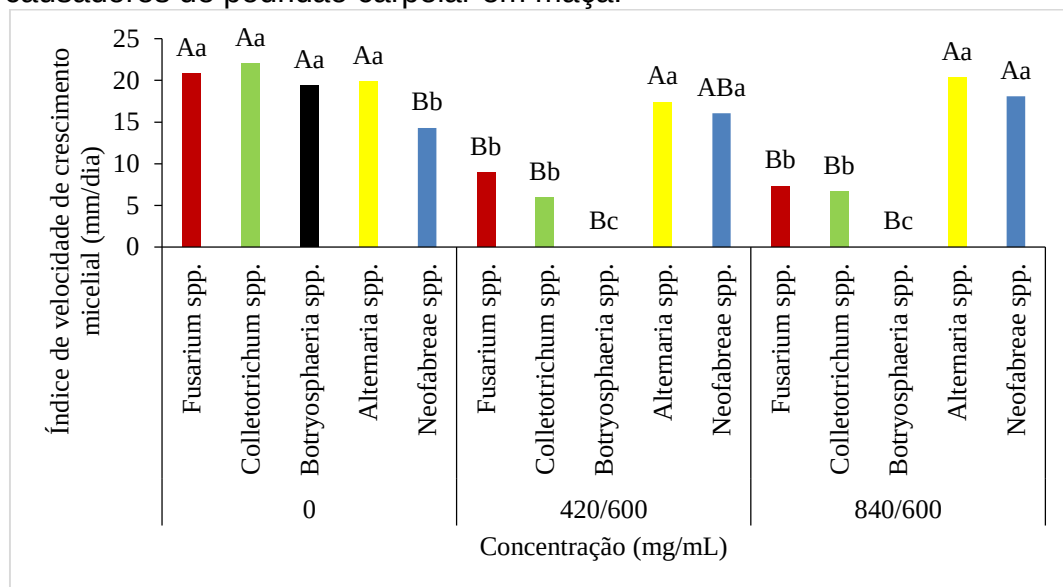
3.1 SENSIBILIDADE DO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO MICELIAL (IVCM) AO TIOFANATO-METÍLICO

A caracterização fenotípica revelou discrepâncias marcantes nos perfis de sensibilidade micelial entre os isolados avaliados. Sob a ausência de tiofanato-metílico (tratamento controle, 0 mg/L), os isolados pertencentes ao gênero *Colletotrichum* spp. expressaram a maior taxa de crescimento, e os gêneros *Fusarium* spp., *Botryosphaeria* spp. e *Alternaria* spp. apresentaram taxas de desenvolvimento semelhantes entre si. Por outro lado, o gênero *Neofabraea* spp. exibiu a menor taxa de crescimento sob ausência do fungicida (Gráfico 1), caracterizando lento desenvolvimento *in vitro*.

Com a incorporação do fungicida ao meio, observou-se para os gêneros *Alternaria* spp. e *Neofabraea* spp. que não houve diferença entre as concentrações testadas (Gráfico 1), confirmando que esses isolados são resistentes à molécula. Conforme observado por DING et al., 2024; MARTIN, 2021, *Alternaria* spp. e *Neofabraea* spp. exibiram comportamento de relativa resistência ao tiofanato-metílico.

Por outro lado, o isolado de *Botryosphaeria* spp. apresentou menor resistência à ação do tiofanato-metílico, visto que o IVCM foi zero (Gráfico 1) para menor dose testada (420 mg L⁻¹). Os gêneros *Fusarium* spp. (média geral de IVCM = 7,31) e *Colletotrichum* spp. (média geral de IVCM = 6,64) exibiram padrões de sensibilidade intermediária ao fungicida (Gráfico 1). Embora tenha apresentado reduções significativas em relação à testemunha, manteve crescimento ainda que com o uso do fungicida, sugerindo monitoramento em condições de campo.

Gráfico 1 – Índice de velocidade de crescimento micelial de patógenos causadores de podridão carpelar em maçã.



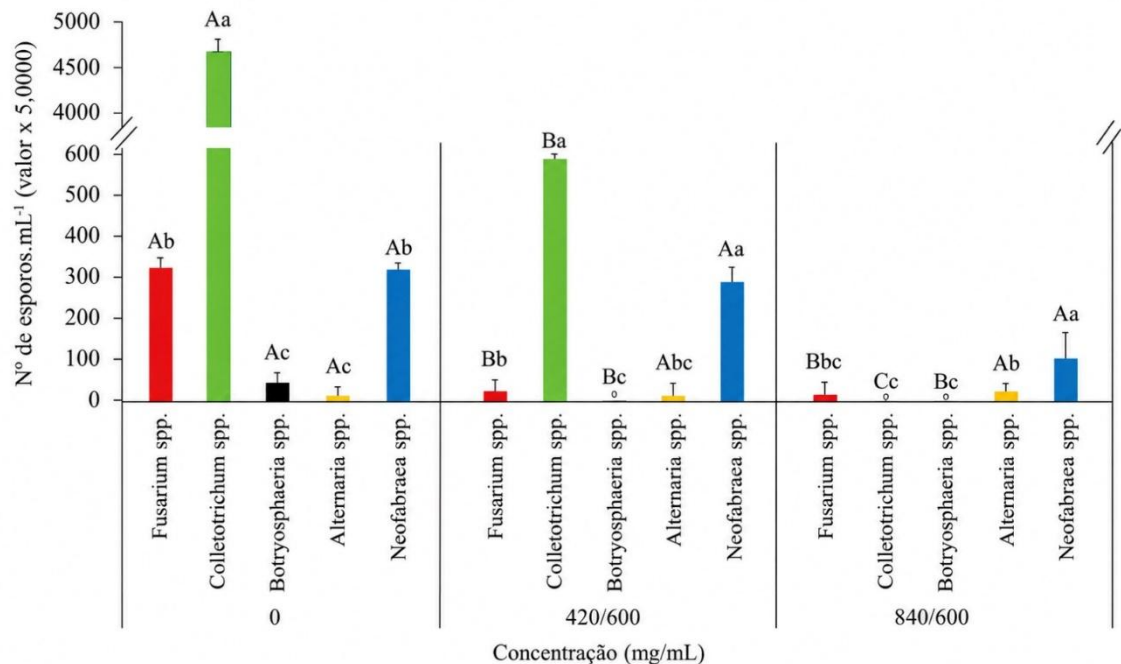
Letras maiúsculas diferenciam o mesmo fungo entre os tratamentos; Letras minúsculas diferenciam os fungos dentro do mesmo tratamento. CV: 14,85%. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

3.2 DINÂMICA DE ESPORULAÇÃO *IN VITRO* SOB ESTRESSE QUÍMICO

A capacidade reprodutiva observada por meio da quantificação de conídios não seguiu, o mesmo do crescimento vegetativo (Gráfico 2). Para os isolados de *Neofabreae* spp. e *Alternaria* spp., não houve controle significativo do fungicida em nenhuma das doses avaliadas.

Estes dois gêneros também apresentaram este comportamento quando testado com tiofanato-metilico *in vitro* como demonstrado nos trabalhos de Fan et al. (2015) testando isolados de *Alternaria* spp. provenientes de pessegueiro, e de Weber & Palm (2010) testando isolados de *Neofabreae* spp. em macieiras.

Gráfico 2- Esporulação dos patógenos causadores de podridão carpelar em maçã por dose de tratamento de tiofanato-metílico.



Letras maiúsculas diferenciam o mesmo fungo entre os tratamentos; Letras minúsculas diferenciam os fungos dentro do mesmo tratamento. CV: 28,74%. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Por outro lado, a esporulação de *Colletotrichum* spp. foi inibida na dose dobrada (840 mg L⁻¹) de tiofanato-metílico (Gráfico 2). Assim, não houve diferença significativa entre aplicar a dose recomendada pelo fabricante e não aplicar o fungicida. Para este patógeno específico consta em bula a indicação de uso para o *Colletotrichum* spp. então mesmo tendo o registro na bula, a dose não tem mais o controle deste isolado do patógeno. Como descreveu Moreira et al. (2019) em que 100% dos isolados testados apresentaram resistência ao tiofanato-metílico, sendo que 72,2% apresentaram ser altamente resistentes em testes *in vitro* sobre o patógeno isolado de macieiras.

Para os isolados de *Fusarium* spp. e *Botryosphaeria* spp. não houve diferença para o número de esporos, independentemente da dose de tiofanato-metílico utilizado (Gráfico 2). O isolado de *Fusarium* spp. esporulou em todos os tratamentos testados, enquanto que, a esporulação do isolado de *Botryosphaeria* spp. foi inibida nas doses recomendada e duplicada do fungicida, consolidando a eficácia seletiva do ingrediente ativo sobre o complexo (DING et al., 2024; BOGO et al., 2018). Resultados similares foram reportados por VALDEZ-TENEZACA et al. (2025) que observaram sensibilidade de *Botryosphaeria* ao tiofanato-metílico em experimentos com EC50 na dose média de 0,71 µg/ml.

3.3 USO DE TIOFANATO-METÍLICO, MANEJO FITOSSANITÁRIO E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA FÚNGICA

Embora o ingrediente ativo ainda apresente eficácia contra *Botryosphaeria* spp., a acentuada heterogeneidade de resposta dos isolados evidencia as limitações do uso isolado de benzimidazóis na cultura (BONTEMPO; MENDES, 2024; OGOSHI et al., 2019). Torna-se necessário redesenhar os programas de manejo integrado, priorizando a rotação de mecanismos de ação (e.g., inibidores da succinato desidrogenase - ISDH e inibidores da desmetilação - IDM) e a associação com fungicidas multissítios protetores e testes com produtos biológicos (DREBES, 2022), visando mitigar a progressão da resistência e manter a sustentabilidade econômica da fruticultura regional (BONTEMPO; MENDES, 2024; DING et al., 2024; KREYCI, 2016).

Diante da complexidade da podridão carpelar e heterogeneidade observada na sensibilidade dos fungos, é necessário conduzir estudos de maior abrangência, consorciando métodos de controle cultural, controle alternativo e controle biológico, com a coleta de um volume superior de isolados provenientes de diferentes regiões produtoras, pois a região possui muitos microclimas tornando a variabilidade alta. Dessa forma, seria possível estabelecer um paralelo considerando que a resistência fúngica pode ser influenciada pela origem geográfica dos isolados (CAMILO; DENARDI, 2001). Além disso, o ano de coleta e o histórico de manejo do pomar ao longo do tempo são fatores determinantes na dinâmica populacional dos patógenos (SANHUEZA et al., 2005). A exposição contínua a ativos sítio-específicos sob variáveis ambientais distintas pode acelerar a pressão de seleção de subpopulações resistentes, tornando o monitoramento regionalizado uma ferramenta para a sustentabilidade da fruticultura de clima temperado (OGOSHI et al., 2019; BOGO et al., 2018).

4 CONCLUSÃO

Os isolados pertencentes aos gêneros *Alternaria* spp. e *Neofabraea* spp. apresentam elevada resistência ao tiofanato-metílico, mantendo taxas estáveis de crescimento micelial (IVCM) e viabilidade reprodutiva (esporulação de conídios) mesmo quando submetidos a concentrações correspondentes ao dobro da dose comercial recomendada.

O isolado de *Botryosphaeria* spp. teve sua esporulação totalmente inibida na dose comercial (420 mg L⁻¹) e no dobro da dose (840 mg L⁻¹).

Os gêneros *Fusarium* spp. e *Colletotrichum* spp. manifestam padrão de sensibilidade intermediária, exibindo reduções significativas nas variáveis de crescimento micelial e produção de conídios na dose recomendada. Por outro lado, na dose dobrada, o isolado de *Fusarium* spp. manteve o desenvolvimento, mas *Colletotrichum* spp. foi totalmente inibido.

Novos estudos são necessários testando outras formulações químicas com isolados advindos de outras regiões, além de agentes de controle alternativos, como os *Bacillus*, para o manejo sustentável das populações resistentes causadoras da podridão carpelar.

REFERÊNCIAS

- ALVES, S. A. M.; CZERMAINSKI, A. B. C. (ed. téc.). O cancro europeu no Brasil. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 190 p.
- ARAUJO, L. et al. Doenças da macieira e da pereira. 2016.
- BARIĆ, B.; PAJAČ, I.; FRANIN, K. Russeting on apple fruits caused by pest control. *Cereal Research Communications*, v. 37, n. Supl., p. 1-4, 2009. DOI: 10.1556/CRC.37.2009.Suppl.1.
- BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A*, v. 160, n. 901, p. 268-282, 1937.
- BOGO, A.; COMPARIN, C. C.; VALDEBENITO SANHUEZA, R. M.; RITSCHER, P.; CASA, R. T.; SILVA, F. N.; EVERHART, S. E. Caracterização de *Neofabraea actinidiae* e *N. brasiliensis* como agentes causadores da podridão olho-de-boi em macieiras no sul do Brasil. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v. 40, n. 2, p. 229-237, 2018.
- BONTEMPO, R. C.; MENDES, L. S. Controle químico e biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* *in vitro*. *Revista Perquirere*, v. 21, n. 2, p. 67-72, 2024.
- CAMILO, A. P.; DENARDI, F. Efeito do carbaryl sobre o ‘russeting’ da maçã (*Malus domestica* Borkh.), cultivares ‘Gala’, ‘Fuji’ e ‘Golden Delicious’. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, v. 23, n. 3, p. 567-571, 2001.
- CASTELLAR, C. Estudos epidemiológicos visando a avaliação e o controle de manchas foliares de macieira. 2019. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.
- CZERMAINSKI, A. B. C. et al. Podridão carpelar das maçãs- Estimativas de perdas no período 1999 a 2002 em vacaria RS. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, 2002.
- DING, D.; SHAO, Y.; ZHAO, J.; LIN, J.; ZHANG, X.; WANG, X.; XU, X.; XU, C. Identificação e patogenicidade de *Alternaria* e *Fusarium*: espécies associadas à doença da mancha negra em maçãs ensacadas em Shaanxi, China. *Frontiers in Microbiology*, v. 15, p. 1457315, 2024.
- DREBES, L. Associação de Produtos Biológicos e Químicos no controle de doenças foliares do trigo e mofo-branco em soja. 2022. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2022.
- EPAGRI. Síntese anual da agricultura de Santa Catarina: Safra 2023/2024. Florianópolis: Epagri/Cepa, 2024.
- FAORO, I. D. Características agronômicas de cultivares de macieira. 2022.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database. Roma: FAO, 2024.

FAN, Z.; YANG, J.-H.; FAN, F.; LUO, C.-X.; SCHNABEL, G. Aptidão e capacidade competitiva de isolados de campo de *Alternaria alternata* com resistência a Fungicidas SDHI, QoI e MBC. *Planta Dis.* 99:1744-1750, 2015.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. *Revista Symposium*, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.

FRAC. Modo de ação dos fungicidas. Comitê de Ação contra a Resistência a Fungicidas, 2019.

GHINI, R. Resistência de fungos a fungicidas benzimidazóis. *Summa Phytopathologica*, v. 15, n. 3/4, p. 195-207, 1989.

HELLER, S. et al. Pollinator Exposure to Systemic Insecticides and Fungicides Applied in the Previous Fall and Pre-Bloom Period in Apple Orchards. [S. l.: s. n.], [ca. 2020].

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal. Rio de Janeiro: IBGE, 2024.

KRETZSCHMAR, A. A. Fatores associados à podridão carpelar em maçã “Fuji” no Brasil. 2004, p. 133. Tese (Doutorado). Porto Alegre. 2004.

KREYCI, P. F. *Sclerotinia sclerotiorum*: características morfológicas, agressividade, sensibilidade “in vitro” a fungicidas e resistência de isolados a tiofanato metílico. 2016. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Piracicaba, 2016.

LEONARDI, G. R.; AIELLO, D.; CAMILLERI, G.; PIATTINO, V.; POLIZZI, G.; GUARNACCIA, V. Collection details and GenBank accession numbers of *Colletotrichum* isolates included in this study. *Phytopathologia Mediterranea*, v. 62, p. 333-348, 2023.

MARTIN, Phillip L. The biology and management of bitter rot of apple in the Mid-Atlantic United States. 2021. 422 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia e Biogeoquímica) – The Graduate School, The Pennsylvania State University, Pennsylvania, 2021.

MICHEREFF, S. J. Fundamentos de Fitopatologia. Recife: UFRPE, Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, 2001.

MOREIRA, R. R.; CASTELLAR, C.; HAMADA, N. A.; MAY DE MIO, L. L. Sensitivity of *Colletotrichum* species, associated to Glomerella leaf spot in apple, to mancozeb and thiophanate methyl. In: DEISING, H. B. et al. (eds). *Modern Fungicides and Antifungal Compounds*. Braunschweig: DPG, 2017. p. 159-160.

MOREIRA, R. R. et al. Fungicide sensitivity of *Colletotrichum acutatum* species complex associated with apple bitter rot. *Plant Disease*, v. 103, n. 8, p. 1954-1961, 2019.

OGOSHI, C.; ARGENTA, L. C.; MONTEIRO, F. P.; PINTO, F. A. F. M.; GONÇALVES, M. W. Podridões pós-colheita em maçã: perdas econômicas e alternativas de manejo. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 5, n. 9, p. 17093-17101, set. 2019.

PERGHER, M. L.; ALVES, M. R.; ALVES, L.; BALDISSERA, L.; RINALDI, B.; BRITO, L. Isolamento, cultivo e identificação de fungos fitopatogênicos. Videira: IFC - Campus Videira, 2022.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965.

SANHUEZA, R. M. V.; BECKER, W.; BONETI, J. I. S.; KATSURAYAMA, Y.; CZERMAINSKI, A. B. C. Manejo das doenças de verão na produção integrada de maçã. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2002.

SANHUEZA, R. M. et al. Detecção e epidemiologia da podridão branca da maçã. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 30, n. 3, p. 217-223, maio/jun. 2005.

SARTORI, J. E. Avaliação da sensibilidade *in vitro* de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas. 2007. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

SILVEIRA, F. N. Relação entre ocorrência de podridão carpelar e características morfológicas de frutos em clones de macieira ‘Gala’ e ‘Fuji’. 2011. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2011.

SHOLBERG, P. L.; CONWAY, W. S. Postharvest pathology. In: *USDA Agriculture Handbook*, n. 66, p. 1-14, 2004.

VALDEZ-TENEZACA, A.; LOLAS, M. A.; NÚÑEZ, F. B.; LATORRE, B. A. et al. Efficacy of pruning wound protectant fungicides in managing *Botryosphaeria* canker and dieback of apple trees in the Maule Region, Chile. *Plant Disease*, v. 109, n. 10, p. 2190-2196, 2025.

WENNEKER, M.; THOMMA, B. P. H. J. Latent pathogens of apple and pear fruits. *Annual Review of Phytopathology*, v. 58, p. 129-145, 2020.

WEBER, R. W. S.; PALM, G. Sensitivity of *Neofabraea alba* and *N. perennans* isolates to thiophanate-methyl and other fungicides. *Journal of Plant Diseases and Protection*, v. 117, n. 4, p. 152-158, 2010.

ZIPPERER, M. Isolamento e seleção de fungos de solo de cultivo de videiras contaminado com dicarbamato para biorremediação. *Anuário Pesquisa e Extensão Unoesc Videira*, 2020.