

TRANSLOCAÇÃO DE BENOMYL EM CAFEIRO

(Coffea arabica L.)

PALMIRA REGINA RIGHETTO ROLIM

Orientador: CAIO OCTAVIO NOGUEIRA CARDOSO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

Piracicaba
Estado de São Paulo - Brasil
Junho, 1976

Dedico

Aos meus Pais

Ao meu Marido

Ao meu Filho .

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Caio Octavio Nogueira Cardoso, pela orientação firme, pelo valioso incentivo e pela revisão dos originais.

À Professora Dra. Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso, pela revisão dos originais e sugestões.

Ao Dr. Conradi Antonio Campacci, pelo apoio e facilidades oferecidas.

Ao colega Domingos de Azevedo Oliveira pelo valioso auxílio prestado na análise estatística dos dados obtidos

Aos colegas da Seção de Fungicidas do Instituto Biológico de São Paulo, pelas sugestões.

Aos funcionários da Seção de Fungicida do Instituto Biológico de São Paulo, pelos auxílios prestados.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa concedida.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a execução deste trabalho.

INDICE

	Página
RESUMO.....	1
INTRODUÇÃO.....	3
REVISÃO DA LITERATURA.....	5
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
RESULTADOS	
Determinação da Curva Padrão de Toxicidade de Benomyl a <u>Glomerella</u> <u>cingulata</u> " in vitro ".....	20
Efeito de Intervalo de Tempo Entre Aplicação do Produto e Translocação à Parte Aérea	22
Efeito de Concentração de Fungicida na Translocação do Benomyl em Cafeeiros	25
DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	29
SUMMARY	33
LITERATURA CITADA	34

RESUMO

Foi estudada a translocação do fungicida sistêmico benomyl em plantas jovens de café, plantadas em vasos e mantidas em casa de vegetação. As plantas foram tratadas por irrigação do solo com suspensão aquosa de benomyl, em diferentes concentrações e, após 27 dias, cortadas na altura do colo e bio-ensaiadas em placas de Petri com Glomerella cingulata.

Os resultados foram comparados com os de uma curva padrão de toxicidade previamente obtida. A translocação foi detectada a partir do tratamento com 1,0 g/l de benomyl, parecendo haver maior acúmulo do produto na parte inferior do caule e a menor deposição foi observada nas folhas intermediárias.

O trabalho permitiu comprovar que em plantas do café ocorre a translocação do fungicida sistêmico benomyl, a partir de absorção radicular; que a dosagem é um fator im

portante para que o composto possa se distribuir uniformemente a todas as folhas e que essa distribuição se verifica em função do tempo.

INTRODUÇÃO

A cafeicultura brasileira sofreu grandes alterações nos últimos anos, desde que se constatou a ocorrência da ferrugem, causada por Hemileia vastatrix Berk. e Br. Inúmeros ensaios foram desenvolvidos, visando conhecer o melhor controle a essa doença.

Atualmente existe grande número de produtos fungicidas capazes de controlar satisfatoriamente a ferrugem alaranjada, porém a maioria deles funciona como protetor, isto é, deve agir antes da infecção pelo patógeno, impedindo a sua penetração.

Hemileia vastatrix é um fungo cuja penetração se dá através dos estômatos, os quais se situam na página inferior de folhas do cafeeiro. Para que o controle seja eficiente, é necessário que o fungicida cubra perfeitamente a superfície inferior de todas as folhas, o que é difícil de ser conseguido na

prática.

Além disso, como estes fungicidas possuem apenas ação de contato, não são capazes de penetrar na planta em quantidades efetivas, sendo facilmente lavados por chuvas, o que exige aplicações repetidas, onerando o custo de produção.

Por outro lado, segundo o conceito de WAIN E CARTER (1972), fungicidas sistêmicos são aqueles capazes de se translocarem livremente no interior da planta. Devido a sua sistemicidade, dispensam aplicações repetidas devidas a intempéries e, por possuírem ação terapêutica, permitem retardar a aplicação até o aparecimento dos sintomas, assim eliminando a necessidade de tratamentos preventivos repetidos.

A translocação de um produto, porém, não é sempre igual em todas as plantas, podendo em algumas espécies ser limitada a certos tecidos.

Se plantas de café permitirem boa movimentação de fungicidas sistêmicos, estes poderão, no futuro, ser aplicados para o controle da ferrugem, sem as desvantagens apresentadas pelos protetores.

REVISÃO DA LITERATURA

Segundo SHEPARD (1972), a eficiência dos compostos sistêmicos está associada a capacidade de absorção pela planta, a translocação e a estabilidade dos mesmos no interior da planta, principalmente quando sua ação é requerida em tecidos ou órgãos distantes do ponto de aplicação.

A estabilidade do princípio fungitóxico é importante para um controle realmente efetivo. Carboxin, um composto sistêmico do grupo oxathiin, é um excelente defensivo contra ferrugens quando aplicado ao solo um pouco antes da inoculação das plantas mas, conforme resultados obtidos por EDGINGTON - (1967), quando incorporado ao solo 10 a 20 dias antes da inoculação, esse produto não oferece proteção contra aquela doença, possivelmente devido a decomposição do produto.

No controle da ferrugem do feijão, SNEL e EDGINGTON (1969) encontraram que oxicarboxin, um produto derivado de

carboxin, revelou-se melhor que o composto original, atribuindo essa melhor proteção à sua maior estabilidade na planta, embora carboxin tenha maior toxicidade a Uromyces phaseoli "in vitro" que oxicarboxin.

No 2º Congresso Internacional de Química de Pesticidas, realizado em Israel em 1971, SHEPARD (1972) levantou a possibilidade de se pensar em termos de uma só aplicação de fungicida sistêmico durante uma estação toda, ao invés de pulverizações a intervalos de 7 a 14 dias, considerando que quantidades de fungicidas, antes aplicadas semanalmente, poderiam agora ser suficientes para muitos meses. Entretanto, chamou a atenção sobre a necessidade de novos conhecimentos para essa área a fim de que possam ser obtidos melhores fungicidas no futuro ou mesmo, que se possa fazer uso mais racional dos já existentes.

O primeiro relato sobre estudos de absorção e translocação de um composto em planta cebe a KENT (1941) e se refere ao tratamento de trigo com sais de lítio através do sistema radicular, visando controlar a ferrugem da folha.

Nos anos subsequentes poucos foram os trabalhos publicados sobre o assunto, o qual parece ter voltado a despertar interesse na década de 50, com os estudos realizados por PRAMER (1953) e van DIEPEN (1960) sobre translocação de antibióticos.

Estudos sobre absorção e translocação de fungicidas vêm sendo feitos há cerca de dez anos e a maioria deles tem sido realizada em plantas herbáceas. SHEPARD (1972) considera que devem existir barreiras mais fortes que impeçam uma boa translocação em plantas lenhosas.

Diversos fungicidas sistêmicos existem atualmente no mercado para controle de doenças do café. Segundo CARDOSO et alii (1976) esses produtos são: pyracarbolid para controle da ferrugem, carbendazin para tratamento de sementes visando controlar o tombamento, benomyl, tiofanato metílico e carbendazin contra rizoctoniose e cercosporiose e benomyl e carbendazin contra antracnose. As recomendações da COOPERATIVA AGRÍCOLA DE COTIA (1975) quanto ao uso de fungicidas sistêmicos em café são: pyracarbolid, contra ferrugem e benomyl, tiofanato metílico e carbendazin contra rizoctoniose e cercosporiose.

O benomyl é um dos fungicidas que apresentam - mais amplo espectro de ação, embora, segundo EDGINGTON et alii (1971), alguns importantes grupos de fitopatógenos sejam insensíveis a esse composto, como é o caso dos Ficomicetos, de alguns Basidiomicetos e dos Deuteromicetos que apresentam esporos pigmentados.

Benomyl parece manter seu princípio fungitóxico durante um tempo razoável, conforme foi constatado por CONNOR e

HEUBNER (1968), que pulverizaram folhagem de macieiras, observando que ocorreu inibição completa da formação de peritécios - de Venturia inaequalis nas plantas tratadas, até a primavera seguinte.

Várias técnicas são empregadas para estudar o movimento de um fungicida em planta. Uma delas é o bio-ensaio "in vitro", usando-se organismos sensíveis ao composto em estudo. Esta técnica foi usada por diversos autores, que utilizaram diferentes fungos-teste, como Ceratocystis ulmi, usado por SMALLEY et alii (1973), Penicillium atrovenetum, por KIRKPATRICK e SINCLAIR (1976), Verticillium albo-atrum, por ERWIN (1969) e ERWIN et alii (1971), V. dahliae, por PINKAS et alii (1973) Rhizoctonia solani, por BORUM e SINCLAIR (1967) e por THAPLIYAL e SINCLAIR (1971), Diaporthe phaseolorum var. sojae, por GRAY e SINCLAIR (1970), Cephalosporium gregatum, por GRAY e SINCLAIR (1971), Botrytis cinerea, por GREENAWAY (1973) e Glomerella cingulata, por PETERSON e EDGINGTON (1970) e PETERSON e EDGINGTON (1971).

PETERSON e EDGINGTON (1970) usaram G. cingulata na determinação "in vitro" do metil - benzimidazol carbamato existente em pedaços de caule e folha de feijoeiros tratados com benomyl, observando a formação de halo de inibição 48 horas após o plaqueamento. PETERSON e EDGINGTON (1971) utilizaram o mesmo fungo em ensaio com extratos preparados de geranio, toma

teiro e plantas de feijão-vagem tratados com benomyl através do solo.

G. cingulata é um organismo que se presta bem para bio-ensaios, porque, como foi demonstrado por HARVEY e GRAHAM (1965), produz conídios em grande quantidade quando cultivado em meio de batata-dextrose-agar, meio este que, depois de distribuído em placas de Petri, tenha sido deixado envelhecer - por duas semanas, sob ação ou não de luz solar incidente, antes de se transferir o fungo.

PETERSON e EDGINGTON (1970) obtiveram melhores resultados nos bio-ensaio quando promoveram um congelamento prévio do tecido vegetal, possivelmente devido a ruptura da parede celular, permitindo uma difusão mais rápida do fungicida no meio de agar.

CLEMONS e SISLER (1969) e PETERSON e EDGINGTON (1969) estudaram a hidrólise do benomyl em solução e no interior de plantas, detectando a formação de um composto fungitóxico quimicamente mais simples e mais estável, o metil-benzimidazol carbanato (MBC).

ROUCHAUD e DECALLONE(1974) fizeram análise de resíduo de fungicida em plantas de melão e em solo tratados com benomyl, por cromatografia gasosa, a qual revelou somente -

MBC, nada tendo sido detectado do composto original, embora a técnica empregada apresentasse uma sensibilidade de 0,02 ppm.

A ação dos espalhantes sobre o benomyl tem sido estudada em ensaios de absorção pelas plantas e de difusão em meio de cultura.

RANNEY (1971) relata que benomyl e thiabendazol foram mais facilmente absorvidos quando aplicados juntamente com Tween 20, a 5 000 ppm, em tratamentos por injeção no solo, abaixo da semente de algodão, visando o controle a Verticillium albo-atrum .

BOOTH e RAWLINS (1970) estudaram a absorção de benomyl por algodoeiro, através da aplicação do produto no solo. Constataram que a absorção aumentou muito com a adição dos espalhantes Tween 20, RA 600 e PE 510. No mesmo trabalho foi demonstrado que a toxicidade de benomyl a Verticillium sp. em meio de agar foi aumentada com a adição dos mesmos espalhantes , em igual concentração.

Segundo a interpretação de EDGINGTON (1972) , o espalhante aparentemente aumenta a solubilidade do benomyl em meio aquoso devido a formação de micelas, nas quais esse fungicida seria altamente solúvel; em outras palavras, os espalhantes agiriam como solventes.

Em contraposição, PROSSARD (1970) não observou eficiência no uso de espalhantes adicionados a uma suspensão de benomyl usada para tratamento de banana após a colheita, por imersão. Também SMALLEY et alii (1973) não obtiveram melhores resultados graças ao uso de espalhantes em benomyl quando trataram olmo contra Ceratocystis ulmi, através de pulverizações foliares.

A absorção e translocação do benomyl tem sido estudada após pulverização foliar, imersão em banhos fungicidas, tratamento de solo e ainda, por injeções sob pressão no tronco ou no solo.

SMALLEY et alii (1973) injetaram benomyl no solo e observaram excelente ação terapêutica do composto contra Ceratocystis ulmi que atacava olmo. NEELY (1975) aplicou injeções de benomyl em altas concentrações em solo, obtendo como resposta um controle quase total de mancha foliar em Aesculus glabra, causada por Guignardia aesculi.

Segundo ERWIN (1973), a aplicação de benomyl ao solo tem a vantagem de fornecer um provimento contínuo de MBC à parte superior da planta, embora para controle no campo, em geral seja necessária grande quantidade do defensivo.

Estudos sobre translocação de fungicidas sistêmi

cos no interior de plantas revelam que, em geral, o sentido da translocação é ascendente, podendo atingir o topo da planta ou simplesmente limitar-se à parte inferior do caule.

MEYER et alii (1971) trataram grama rasteira com benomyl através do solo e posteriormente realizaram bio-ensaios, os quais revelaram a presença de fungicida na parte aérea 48 horas após a aplicação do produto, que se acumulou até 96 horas após o tratamento. A maior proporção do fungicida foi encontrada nas folhas, evidenciando assim uma translocação ascendente. Quando aplicaram o fungicida através de pulverização foliar, os autores não constataram o composto nas partes inferiores às pulverizadas, não se revelando portanto a existência de movimento descendente.

Após tratamento de solo com benomyl, THAPLIYAL e SINCLAIR (1971) constataram movimento ascendente de MBC em "seedlings" de soja, a partir de absorção radicular. Anteriormente, GRAY e SINCLAIR (1970) aplicaram benomyl a "seedlings" de soja através do solo durante 4 semanas, observando acúmulo do composto nos cotilédones e pouca estabilidade do mesmo no hipocótilo, dessa forma oferecendo limitada proteção contra o ataque de organismos causadores do tombamento.

FIELDING e RHODES (1967) aplicaram bio-ensaio e radioautografia para estudar a presença do fungicida sistêmico

chloroneb em plantas de algodão e feijão, após tratamento de semente ou de solo. Os resultados obtidos indicaram que o composto é absorvido pelas raízes e translocado para a planta jovem, mas que é retido principalmente na parte inferior do caule quando a planta amadurece.

Resultados obtidos por ERWIN et alii (1970) mostraram que thiabendazol, um fungicida do mesmo grupo do benomyl, quando aplicado ao solo, não se moveu ao topo de algodoeiro, embora quantidades consideráveis estivessem presentes na região do caule e nas folhas mais velhas.

Segundo EDGINGTON (1972), o movimento de um fungicida no interior da planta deve ser considerado em relação ao sistema simplasto-apoplasto. A maioria dos fungicidas sistêmicos conhecidos revelou movimentação apoplástica, sendo transportados pelo xilema no fluxo da transpiração. PETERSON e EDGIN-
GTON (1971) e SHEPARD (1972) consideram que a distribuição do fungicida na planta seja um movimento passivo, ocorrendo como resultado de forças físicas.

Segundo PETERSON e EDGINGTON (1971) e NETZÉR e
DISHON (1970), o acúmulo de fungicida deve ocorrer em órgãos que apresentam transpiração mais intensa e, portanto, órgãos -
com poucos estômatos, como vagens e certos frutos, devem receber pequena quantidade de fungicida.

HINE et alii (1971) não detectaram fungicida em tecidos do embrião, tegumento e linter de capulhos de algodoeiros tratados com benomyl por pulverização e tratamento de solo; o princípio fungitóxico revelou-se apenas na superfície externa da parede do capulho e das brácteas.

PETERSON e EDGINGTON (1971) trataram plantas de geranio com benomyl, observando presença de MBC nas folhas, mas não em pétalas; quando trataram tomateiros, o teor do composto foi muito superior nas folhas que nos frutos e em plantas de feijão-vagem, a concentração de MBC encontrada no fruto era de 0,5 a 3% daquela revelada nas folhas.

SNEL e EDGINGTON (1970) observaram crescente a cúmulo de carboxin e oxicarboxin nas margens foliares de feijoeiros tratados através do sistema radicular com esses produtos, fato característico do movimento apoplástico. No mesmo trabalho demonstraram a importância de transpiração para a translocação de fungicida, recobrando a superfície de uma folha, a qual apresentou posteriormente quantidade muito inferior de fungicida que as não recobertas.

Existem entretanto relatos de alguns resultados que parecem constituir uma exceção à teoria do movimento apoplástico.

BARON (1971) relata que, em bananeiras tratadas com benomyl por pulverização da parte aérea, foi observada a presença do fungicida em folhas novas, que apareceram após o tratamento. O autor conclui que deve ter ocorrido um movimento descendente do produto pelos canais do floema.

WEINKE et alli (1969), citados por KIRBY (1972), relatam que aplicações por pulverização foliar de 500ppm de thiabendazol a tomateiro adulto revelou presença de 47 ppm do produto nas folhas, 4 ppm no caule e 2,8 ppm nas raízes, após 7 dias. Segundo KIRBY, esses resultados parecem implicar em algun grau de translocação pelo floema.

Como a hipótese do movimento apoplástico é suportada apenas por evidências indiretas, EDGINGTON(1972) considera que, embora a maior proporção de um fungicida sistêmico absorvido por uma planta seja translocado apoplasticamente, esse sistema não é o único, havendo evidências de outros tipos de translocação.

SHEPARD (1972), por outro lado, considera que, como a translocação é principalmente ascendente, o local ideal de aplicação de fungicidas sistêmicos deveria ser a parte inferior das plantas, ou a região abaixo da superfície do solo, através de tratamento de solo ou de semente.

A translocação ascendente apresentada pela maioria dos produtos é realmente uma evidência de que esse é o tipo principal e mais frequente de movimentação. Assim sendo, consideramos que a maneira mais racional de utilização de um fungicida sistêmico seja a sua aplicação na parte inferior da planta, junto ao sistema radicular.

Bio-ensaio com Glomerella cingulata mostrou-se como um dos métodos bastante sensíveis para estudar a translocação de benomyl, podendo ser empregado na expectativa de resultados seguros.

Finalmente, pelos trabalhos discutidos acima podemos concluir que os estudos de translocação em plantas herbáceas pouco puderam esclarecer quanto a essa movimentação em lenhosas. Particularmente em cafeeiros, nada é conhecido sobre translocação apesar de existirem no mercado produtos sistêmicos destinados ao controle da ferrugem alaranjada.

Considerando os pontos discutidos, julgamos de interesse o desenvolvimento deste trabalho, cujo objetivo foi determinar a translocação de um fungicida sistêmico, benomyl, em plantas de café.

MATERIAL E MÉTODOS

As preparações fungicidas foram obtidas a partir de produto comercial, formulado como pó molhável, contendo 50% de benomyl.

Para ensaios de laboratório foram preparadas soluções-estoque de benomyl a 100 ppm em álcool etílico absoluto e, a partir destas, foram feitas diluições sucessivas até se chegar à concentração desejada.

Para tratamento das plantas, benomyl foi veiculado em água, obtendo-se uma suspensão à qual se adicionou um agente espalhante, Tween 80, na proporção de 5 ml/l de suspensão.

O fungo-teste empregado nos bio-ensaios foi Glo-
merella cingulata (Ston.) Spauld & Schrenk, cuja alta sensibilidade ao benomyl, relatada por PETERSON e EDGINGTON (1970), foi por nós confirmada em testes preliminares. Os isolamentos fo

ram obtidos a partir de pontas secas de ramos de cafeeiro, cul
tivados em meio de batata-dextrose-agar (BDA) e mantidos a 28°C.
Para a produção de conídios era feita a repicagem de micélio pa
ra meio de sacarose-peptona-agar (SPA) que, para esse fim, reve
lou-se melhor que BDA, em ensaios preliminares. As placas de
Petri contendo SPA, depois de semeadas, eram transferidas para
uma incubadora com temperatura de 28°C e iluminação fornecida
por 4 lâmpadas fluorescentes de 15 watt, luz do dia, sob um fo
toperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, durante sete
dias.

Foram utilizadas plantas jovens de café varieda
de Mundo Novo, apresentando 40 cm de altura e possuindo 4 a 6
pares de folhas, plantadas em vasos de barro com 20 cm de altu
ra e 14 cm de diâmetro superior, com uma planta por vaso.

O solo dos vasos constou de uma mistura em par
tes iguais de solo sílico-argiloso e solo orgânico, resultando
boas condições de porosidade e fertilidade para as plantas.

O tratamento das mudas foi feito irrigando-se o
solo com a suspensão fungicida, cada vaso recebendo 150 ml da
preparação. O excesso de drenagem era recolhido e devolvido -
ao solo do vaso. Como testemunha, as plantas sofriam irriga--
ção com igual volume de água contendo o espalhante.

Os ensaios biológicos foram realizados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio de BDA. Sobre esse meio verteu-se 5 ml de uma suspensão de conídios de G.cingulata com $1,7 \times 10^4$ esporos/ml em meio de batata-dextrose contendo 1% de agar. No preparo da suspensão, o meio era deixado esfriar até uma temperatura de 45°C , antes de se adicionar os conídios.

Em cada placa assim preparada eram distribuídos 3 cilindros de aço de 6 mm de diâmetro interno e parede de 1mm de espessura, em pontos equidistantes do centro da placa. No interior dos cilindros era colocado 0,1 ml de solução de benomyl ou de extrato de planta, cuja ação fungitóxica era avaliada medindo-se o diâmetro do halo de inibição que se formava ao redor do cilindro.

A técnica seguida no tratamento das plantas e na obtenção dos extratos é descrita mais adiante neste trabalho, juntamente com os experimentos desenvolvidos.

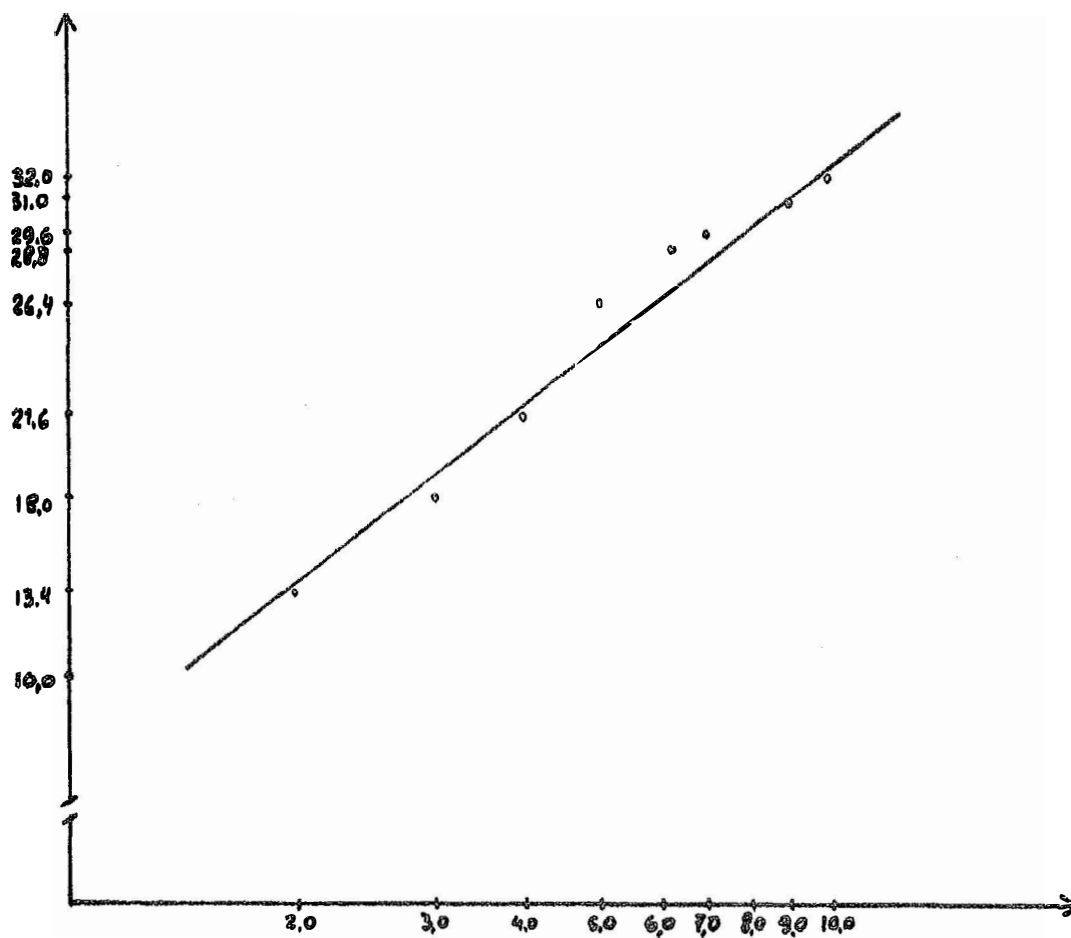
RESULTADOS

DETERMINAÇÃO DA CURVA PADRÃO DE TOXICIDADE DO BENOMYL A G.CINGULATA "IN VITRO"

Foram preparadas soluções etanólicas de benomyl em concentrações de 1,0 a 10,0 ppm. A testemunha constou de etanol puro. Foram feitas cinco repetições por tratamento, cada repetição consistindo de um cilindro. Depois de 48 horas foram medidos os halos de inibição. Os resultados são apresentados na figura 1.

Os dados evidenciam a existencia de uma relação direta entre a dosagem de benomyl e a inibição de G. cingulata, o que permitiu a continuação do trabalho pela técnica escolhida, isto é, o estudo da translocação através de bio-ensaio.

Diâmetro do
halo de inibição
em mm.



Concentração de benomyl em ppm
(transformada em logaritmo)

Fig. 1. Curva padrão de toxicidade de benomyl a Glomerella
cingulata em meio de cultura.

EFEITO DE INTERVALO DE TEMPO ENTRE APLICAÇÃO DO PRODUTO E TRANS
LOCAÇÃO À PARTE AÉREA

Esse ensaio foi elaborado com a finalidade de se obter uma indicação do tempo necessário à absorção do fungicida pelo sistema radicular do cafeeiro jovem e sua translocação à parte aérea da planta.

O solo dos vasos foi irrigado com uma suspensão aquosa contendo 2,5 g/l de benomyl. Depois de intervalos de 10, 22, 31 e 39 dias do tratamento, as mudas foram cortadas na altura do colo, trabalhando-se somente com a parte aérea. As folhas foram separadas em 1º, 2º, 3º e 4º par, ordenados a partir das inferiores e o caule foi seccionado em 3 partes: basal, mediana e apical.

Esse material foi então levado a congelador em sacos plásticos, onde ficou durante 72 horas. Transcorrido esse tempo, procedeu-se à sua esterilização superficial por imersão durante 15 minutos, em solução aquosa de hipoclorito de sódio a 10%, sendo em seguida lavado em 4 banhos sucessivos de água esterilizada. Das lâminas foliares foram cortadas fitas e os pedaços de caule sofreram seccionamento longitudinal, sendo esse material posteriormente colocado em placas de Petri previamente semeadas com conídios de G. cingulata.

Quando o tecido vegetal continha teor detectável de composto fungitóxico, formavam-se zonas de inibição adjacentes às extremidades seccionadas do material, que podiam ser observadas 48 horas após o plaqueamento.

O ensaio foi desenvolvido com 3 repetições para cada tratamento. Os resultados obtidos são apresentados na tabela 1.

Os resultados indicam uma maior concentração do princípio fungitóxico no caule, de 10 a 22 dias após o tratamento, acumulando-se nas folhas de 31 a 39 dias após o mesmo.

Como a translocação deveria ser estudada tanto em caule como em folhas, considerou-se como ótimo um intervalo médio entre a maior concentração observada em caule e o início de acúmulo em folhas, isto é, de 22 a 31 dias.

Tabela 1. Inibição de G. cingulata por benomyl difundido em BDA, a partir de segmentos de cafeeiros tratados com o produto.

Trat. (dias)	Caule			Folhas			
	Base	Meio	Ápice	1º Par	2º Par	3º Par	4º Par
10	++++	+++	+++	-	-	-	+
22	++++	++++	++	+	++	-	++++
31	++	+++	++	++	+++	+	++
39	+	++	+	+++	+++	++++	++

Obs. (+) representa formação de halo de inibição, aumentando de (+) até (++++) ;
 (-) representa ausência de halo de inibição.

EFEITO DE CONCENTRAÇÃO DE FUNGICIDA NA TRANSLOCAÇÃO DO BENOMYL
EM CAFEIRO

Para esse ensaio foram preparadas suspensões fungicidas nas concentrações de 0,25 - 0,5 - 1,0 - 2,0 - 2,5 e 4,0 gramas por litro de benomyl, e mais a testemunha, sem fungicida. O experimento foi portanto desenvolvido com 7 tratamentos, em 5 blocos ao acaso, num total de 35 parcelas, cada parcela consistindo de uma planta.

Depois de 27 dias, as plantas foram retiradas do solo e preparadas para a extração do princípio fungitóxico. As folhas foram separadas em velhas (V), intermediárias (M) e novas (N) e o caule, em duas partes, inferior (I) e superior (S).

As amostras foram pesadas separadamente, anotando-se os pesos frescos do material e mantidas em congelador até a extração. Esta foi feita triturando-se a amostra em homogenizador Sorvall, com 40ml de etanol. O homogenizado foi então centrifugado a 10000 rpm durante 5 minutos, e o sobrenadante foi concentrado em evaporador rotativo a vácuo, até secagem total. O material foi ressuspenso em 2 ml de etanol. Os extratos foram obtidos num total de 175 amostras, as quais foram mantidas em congelador até o momento de serem analisadas.

A análise foi feita através de bio-ensaio com G.

cingulata, fazendo-se duas repetições para cada amostra.

Os dados, obtidos em milímetros de diâmetro do halo de inibição, foram comparados com os da curva padrão, para verificação da concentração fungicida a que correspondiam. As concentrações, dadas em ppm/g de peso fresco do tecido vegetal, foram transformadas em logaritmo e estão apresentadas na tabela 2.

Os tratamentos testemunha, 0,25 e 0,5 g/l diferiram qualitativamente dos demais, por não apresentarem inibição ao organismo-teste.

Tabela 2. Concentração de benomyl por grama de tecido fresco - de diferentes partes de cafeeiros tratados com o produto através do solo, expressa em logaritmo.

Partes da Planta	Concentração de benomyl em g/l aplicado ao solo			
	1,0	2,0	2,5	4,0
Fls.Velhas	0,6571 ^b	0,5645 ^c	0,5772 ^a	0,5821 ^b
Fls.Médias	0,1818 ^b	0,3987 ^b	0,3841 ^a	0,8276 ^a
Fls.Novas	0,4175 ^b	0,5116 ^c	0,6738 ^b	0,7314 ^b
Caule Inf.	0,9216 ^c	0,8688 ^c	0,8772 ^c	0,8363 ^b
Caule Sup.	0,6172 ^b	0,6483 ^c	0,6055 ^c	0,7199 ^b
	0,2893 ^b	0,2573 ^c	0,2528 ^a	
	0,4130 ^{b:c}	0,4130 ^{b:c}	0,4017 ^{a:b}	
D.M.S.			0,4225 ^{a:c}	
			0,3528 ^{b:c}	
			0,1958 ^c	

a - média de 3 repetições

C.V. - 24,32%

b - média de 4 repetições

c - média de 5 repetições

Na análise de variância dos dados obtidos, o valor de F para concentração não foi significativo e os valores para partes da planta e para a interação concentração x partes da planta, foram significativos ao nível de 5%. A partir desse resultado, foi feita uma segunda análise, desdobrando o efeito

to de interação entre partes da planta / concentração.

A distribuição do fungicida nas diversas partes da planta mostrou diferenças significativas ao nível de 5% nos tratamentos com 1,0 , 2,0 e 2,5 g/l de benomyl. No tratamento com 4,0 g/l de benomyl, ocorreu uma distribuição homogênea do composto na planta.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Embora tenha sido afirmado no início deste trabalho que, particularmente em cafeeiros, nada é conhecido sobre translocação, no 2º Congresso sobre Pesquisas Cafeeiras, realizado em 1974 em Poços de Caldas, foram apresentados dois trabalhos que procuraram trazer algum conhecimento sobre o assunto. MANSK et alii (1974) estudaram a translocação de três fungicidas sistêmicos em cafeeiros, aplicados em pulverização, constatando que movimentação ocorreu apenas dentro de uma mesma folha, não observando porém, de uma folha para outra. Resultados o postos foram obtidos por FIGUEIREDO et alii (1974) que, utilizando quatro fungicidas sistêmicos em pulverização, concluíram que todos eles se translocaram em cafeeiros, tanto no sentido ascendente, como no lateral e descendente, inclusive observando um controle de ferrugem do cafeeiro de 100% em relação à testemunha, conseguindo graças ao movimento descendente de oxicarboxin.

A divergência entre os resultados dos dois trabalhos pode ser atribuída principalmente ao sistema usado para a avaliação do efeito de translocação, que foi através do controle à ferrugem do cafeeiro. Esta é uma maneira indireta de se determinar tal movimentação, e só poderia ser empregada com maior segurança, num trabalho que envolvesse uma larga faixa de concentrações do fungicida, associada a diferentes intervalos entre aplicação do produto e avaliação dos resultados. Assim mesmo, poderiam ocorrer influencias de outros fatores no aparecimento da doença, que iriam confundir os resultados.

A técnica de bio-ensaio para a avaliação da concentração de fungicida em solução, embora de simples execução, oferece segurança nos resultados, quando a finalidade é determinar quali-ou quantitativamente a presença ou a ausência do princípio fungitóxico envolvido, isto é, quando não há interesse em se conhecer a natureza química do composto. A sensibilidade do organismo-teste, Glomerella cingulata, foi suficiente para as condições experimentais desse trabalho, ocorrendo inibição por concentração de 1 ppm de fungicida.

O ensaio desenvolvido sobre o tempo necessário para se detectar translocação na parte aérea, após aplicação de benomyl ao solo de cafeeiros, embora seja apenas indicativo, permitiu observar que, decorridos 39 dias do tratamento, o maior acúmulo do composto fungitóxico ocorreu nas folhas, parecen-

do concordar com a teoria do movimento ascendente seguindo o -
fluxo da transpiração.

A constatação de presença do fungicida quase ex
clusivamente no caule, 22 dias após a aplicação do produto ao -
solo, permite considerar válida a hipótese formulada por SHE-
PARD (1972), segundo a qual, em plantas lenhosas, as barreiras
a translocação devem ser mais fortes. Os resultados aqui ob
tidos mostram-se muito diferentes daqueles relatados por MEYER
et alii (1971) em plantas herbáceas, segundo os quais, em gra-
ma rasteira, a translocação do fungicida sistêmico do sistema -
radicular às folhas, foi máxima 96 horas após a aplicação do be
nomyl ao solo.

Pelo exame dos resultados apresentados na tabela
2, obtidos no ensaio sobre efeito de concentração de benomyl so
bre sua translocação em cafeeiros verifica-se que, nas parcelas
tratadas com 1,0 , 2,0 e 2,5 g/l do produto, ocorreu um acúmulo
significativamente maior deste na parte inferior do caule, sen-
do a menor deposição observada nas folhas intermediárias. Con
siderando que Hemileia vastatrix pode atacar folhas em qualquer
fase de desenvolvimento, é desejável que as folhas intermedia--
rias contennam teor apreciável de composto fungitóxico, após -
tratamento da planta com um fungicida sistêmico.

O trabalho evidenciou que o emprego de uma prepa

ração fungicida mais concentrada, isto é, 4,0 g/l, permite essa distribuição mais uniforme, sob as mesmas condições. Por outro lado, uma distribuição mais uniforme seria observada nas folhas após tratamento com 2,5 g/l do produto, se o bio-ensaio fosse desenvolvido 39 dias após a aplicação. Entretanto, como o intervalo entre inoculação pela ferrugem e aparecimento de pústulas em folhas situa-se ao redor de 21 dias, o tratamento fungicida por via radicular deveria ser feito preventivamente, muito antes de se suspeitar a ocorrência da doença, para se verificar uma ação protetora; ou então, a translocação do produto para folhas ocorreria após a formação de pústulas e o aparecimento de esporos, quando uma ação terapêutica seria necessária. Em qualquer dos casos, salienta-se a necessidade de maior conhecimento sobre a estabilidade do princípio fungitóxico nas folhas do cafeeiro, bem como das dosagens mínimas necessárias para se verificar ação terapêutica sobre a ferrugem.

O desenvolvimento do trabalho e os resultados obtidos permitiram concluir que em cafeeiros jovens ocorre a translocação de fungicida sistêmico, a partir de absorção radicular; que existe uma dosagem mínima necessária de fungicida para que a distribuição se verifique com certa homogeneidade em todas as folhas e que a translocação do fungicida sistêmico pela parte aérea de cafeeiros jovens ocorre em função do tempo decorrido após aplicação do produto ao solo.

SUMMARY

Translocation of systemic fungicide benomyl in young coffee (Coffea arabica L.) plants was studied. Coffee plants were potted and kept under greenhouse conditions. The plants were treated by soil drenching with benomyl - water suspensions, at different rates; after 27 days, the above ground parts were bio-assayed with Glomerella cingulata in Petri dishes. The results were compared with those from a standard toxicity curve previously obtained. Translocation was detected from 1,0 g/l benomyl treatment and it seemed to exist the highest accumulation in the lower part of stem, and the lowest deposition was observed in the intermediary leaves.

This work allowed the comprovation that translocation of systemic fungicide benomyl really occurs in coffee plants, by root uptake; that fungicide rate is an important factor in the uniform distribution of the compound to the leaves and also that this distribution is related with time after fungicide treatment.

LITERATURA CITADA

BARON, M., 1971. Dosage, Migration et Distribution d'un Fongicide Systémique (Benomyl) dans les Feuilles de Bananier. Fruits d'Outre Mer, 26 : 643-650.

BOOTH, J.A. e T.E. RAWLINS, 1970. A Comparison of Various Surfactants as Adjuvants for the Fungicidal Action of Benomyl on Verticillium. Plant Disease Reporter 54:741-744.

BORUM, D.E. e J.B. SINCLAIR, 1967. Systemic Activity of 2,3 - dihidro - 5 - carboxanilide - 6 - methyl - 1,4 - oxathiin (Vitavax) against Rhizoctonia solani in Cotton Seedlings. Phytopathology, 57:805.

CARDOSO, C.O.N., E.J.B.N. CARDOSO, A.C.D. de TOLEDO, H. KIMATI e J.SOAVE, 1976. Guia de Fungicidas. Piracicaba, Editora Luiz de Queiroz. 209 p.

- CLEMONS, G.P. e H.D. SISLER, 1969. Formation of a Fungitoxic Derivate from Benlate. Phytopathology, 59:705-706.
- CONNOR, S.R. e J.W. HEUBERGER, 1968. Apple Scab. V. Effect - of Late - Season Applications of Fungicides on Prevention of Perithecial Developmente by V. inaequalis. Plant Disease Reporter, 52:654-658.
- COOPERATIVA AGRÍCOLA DE COTIA - COOPERATIVA CENTRAL, São Paulo, 1975. Controle de Doenças e Pragas. 193p.
- van DIEPEN, J.R., 1960. Bioassay of the Systemic Activity of Cicloheximide Semicarbazone in Cucumber Plants. Phytopathology, 50:795-797.
- EDGINGTON, L.V., 1972. Systemic Activity in Plant Chemotherapy. In: TAHORI, A.S., Ed. Herbicides, Fungicides, Formulation Chemistry, Israel, Gordon and Breach Publishers, vol 5:379-381.
- EDGINGTON, L.V. e C. CORKE, 1967. Biological Decomposition of Oxathiin Fungicide. Phytopathology, 57: 810. (Abstract)
- EDGINGTON, L.V., K.L.KHEW e G.L. BARRON, 1971. Fungitoxic - Spectrum of Benzimidazole Compounds. Phytopathology, 61: 42-44.

- ERWIN, D.C., 1969. Methods of Determination of the Systemic - and Fungitoxic Properties of Chemicals Applied to Plants with Emphasis on Control of Verticillium Wilt with Thiazobenzazole and Benlate. World Rev. Pest Control, 8:6-22.
- ERWIN, D.C. 1973. Systemic Fungicides: Disease Control, Translocation and Mode of Action. Annual Review of Phytopathology, 11: 389-421.
- ERWIN, D.C., J.J. SIMS, D.E. BORUM e J.R. CHILDERS, 1971. Detection of the Systemic Fungicide, TBZ, in Cotton Plants and Soil By Chemical Analysis and Bioassay. Phytopathology, 61: 964-967.
- ERWIN, D.C., M.C. WANG e J.J. SIMS, 1970. Translocation of 2-(4 - Thiazolyl) benzimidazole in Cotton. Phytopathology, 60 : 1291.
- FIELDING, M.J. e R.C. RHODES, 1967. Studies with ¹⁴C -Labeled Chloronob Fungicide in Plants. Mechanization Conference Dallas, Texas, 9-13 janeiro .
- FIGUEIREDO, P., A.P. da SILVEIRA, P.R. MARIOTTO, C.GERALDO Jr. e D.A. OLIVEIRA, 1974. Comportamento de Fungicidas Sistêmicos no Controle da Ferrugem do Cafeeiro. Resumos do 2º Congresso Brasileiro sobre Pesquisas Cafeeiras, Poços

de Caldas : 255-257.

FROSSARD, P., 1970. Précisions sur les Propriétés du Benomyl vis-à-vis de l'Anthraxose de Blessures des Bananes. Fruits d'Outre Mer, 25- 265-273.

GRAY, L.E. & J.B. SINCLAIR, 1970. Uptake and Translocation of Systemic Fungicides By Soybean Seedlings: Phytopathology , 60 : 1486-1488.

GRAY, L.E. & J.B. SINCLAIR, 1971. Systemic Uptake of ^{14}C - Labeled 2- (4 - thiazolyl) benzimidazole in Soybean. Phytopathology, 61:523-525.

GREENAWAY, W., 1973. Growth of *Helminthosporia* on Media Containing the Fungicide Benomyl and the Assay of Benomyl Using *Botrytis cinerea*. Annals of Applied Biology, 73: 319-324.

Harvey, A.E. & S.O. GRAHAM, 1965. Regaining Sporulative Ability in Cultures of *Glomerella cingulata* by Light and Other Treatments of the Medium. Phytopathology, 55: 369.

HINE, R.B., L.J. AINSWORTH Jr., A.O. PAULUS & J.L. Mc MEANS, - 1971. Absorption and Movement of Benomyl into Cotton - Bolls and Control of Bell Rot. Phytopathology, 61:1134 -

1136.

KENT, N.L., 1941. Absorption, Translocation and Ultimate Fate of Lithium in the Wheat Plant. New Phytology, 40:291.

KIRBY, A.H.M., 1972. Progress Towards Systemic Fungicides. - PANS, 18 : 1-33 ..

KIRKPATRICK, B.L. e J.B. SINCLAIR, 1976. The Effect of Concentration, Exposure Time and Age of Plant on Uptake and Translocation of Two Systemic Fungicides in Soybeans. Phytopathology, 66:102-105.

MANSK, Z., J.B. MATIELLO, I.P.R. ANDRADE, A.PAULINO, R.G. de ABREU, 1974. Estudo do Efeito Protetivo, Curativo e de Translocação de Fungicidas Sistêmicos em Relação ao Controle da Ferrugem do Cafeeiro. Resumos do 2º Congresso Brasileiro sobre Pesquisas Cafeeiras, Poços de Caldas: 108 - 113.

MEYER, W.A., J.F. NICHOLSON e J.B. SINCLAIR, 1971. Translocation of Benomyl in Creeping Bentgrass. Phytopathology, 61: 1198 - 1200.

NEELY, D., 1975. Treatment of Foliar Diseases of Woody Ornamentals with Soil Injections of Benomyl. Plant Disease -

Reporter, 59: 300-303.

NETZER, D. e I. DISHON, 1970. Effect of Mode of Application of Benomyl on Control of Sclerotinia sclerotiorum in Muskmelons. Plant Disease Reporter, 54: 909-912.

PETERSON, C.A. e L.V. EDGINGTON, 1969. Quantitative Estimation of the Fungicide Benomyl Using a Bio-autograph technique. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 17 : - 898-899.

PETERSON, C.A. e L.V. EDGINGTON, 1970. Transport of the Systemic Fungicide, Benomyl, in Bean Plants. Phytopathology, 60: 475-478.

PETERSON, C.A. e L.V. EDGINGTON, 1971. Transport of Benomyl - into Various Plant Organs. Phytopathology, 61: 91-92.

PINKAS, Y., E. SHABI, Z. SOLEL e A. COHEN, 1973. Infiltration - and Translocation of TBZ in Apple Trees by Means of a - Pressure Injection Technique. Phytopathology, 63: 1166-1168

PRAMER, D., 1953. Observations on the Uptake and Translocation of Five Actinomycete Antibiotics by Cucumber Seedlings Annals of Applied Biology, 40: 617-623.

RANNEY, C.D., 1971. Studies with Benomyl and Thiabendazole on Control of Cotton Diseases. Phytopathology, 61:783-786.

ROUCHAUD, J.P. e J.R. DECALLONE, 1974. A Gas Chromatografic - Method for the Analysis of MBC in Plants and Soil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 22:259-260.

SHEPARD, M.C., 1972. Factors Limiting the Systemic Activity - of Fungicides. In: TAHORI, A.S., Ed. Herbicides, Fungicides, Formulation Chemistry, Israel, Gordon and Breach Publishers, vol 5:383-388.

SMALLEY, E.B., C.J. MEYERS, R.N. JOHNSON, B.C. FLUKE e R.VIEAU, 1973. Benomyl for Practical Control of Dutch Elm Disease. Phytopathology, 63:1239-1252.

SNEL, M. e L.V. EDGINGTON, 1969. Decomposition and Distribution of Labeled Oxathiin Fungicides, Sistemic in Bean. - Phytopathology, 59: 917.(Abstract).

SNEL, M. e L.V. EDGINGTON, 1970. Uptake, Translocation and Decomposition of Systemic Oxathiin Fungicides in Bean. Phytopathology, 60: 1708 - 1716.

THAPLIYAL, P.N. e J.B. SINCLAIR, 1971. Translocation of Benomyl, Carboxin an Chloroneb in Soybean Seedlings. Phytopa-

thology, 61 : 1301-1302.

WAIN, R.L. e G.A. CARTER, 1972. Nomenclature and Definitions.

In: MARSH, R.W., Ed. Systemic Fungicides, Londres, Long--
man Group Limited: 1-5.