

OCORRÊNCIA DE LINHAGENS DE *BOTRYTIS SQUAMOSA* RESISTENTES A FUNGICIDAS DO GRUPO DOS BENZIMIDAZÓIS E DICARBOXIMIDAS*

R. GHINI¹ e H. KIMATI²

¹ EMBRAPA/CNPDA, C.P. 69, 13.820 Jaguariúna, SP, Brasil, Bolsista do CNPq.

² ESALQ/USP, Departamento de Fitopatologia, C.P. 9, 13400 Piracicaba, SP.

* Parte da tese de doutorado do primeiro autor. Trabalho parcialmente financiado pela FAPESP e EMBRAPA/CNPDA.

... Aceito para publicação em: 02/08/1989.

RESUMO

Isolados de *Botrytis squamosa*, causador da Queima das Pontas da cebola, foram testados quanto à resistência a benomyl e iprodione através do método do fungicida incorporado ao meio de cultura. Em culturas de cebola, nas quais foi utilizado benomyl, foram obtidos isolados resistentes, apresentando crescimento micelial em meio de cultura de BDA contendo 1000 ppm do fungicida. Em locais onde o benomyl não foi aplicado, os isolados apresentaram-se sensíveis ao produto, sendo o crescimento inibido pela concentração de 1 ppm. Todos os isolados foram considerados sensíveis a iprodione, visto que apresentaram pouco ou nenhum crescimento micelial em meio de cultura contendo 10 ppm do fungicida.

As linhagens resistentes a benomyl, a iprodione e a iprodione + benomyl, obtidas em condições de laboratório, não tiveram alteradas suas sensibilidades ao fungicida propiconazol, porém houve uma tendência geral de se mostrarem mais sensíveis ao captan, captafol e mancozeb do que a linhagem sensível. As linhagens resistentes a iprodione foram também resistentes a procymidone e dicloran.

ABSTRACT

OCCURRENCE OF *BOTRYTIS SQUAMOSA* STRAINS RESISTANT TO BENZIMIDAZOLES AND DICARBOXIMIDES

Isolates of Botrytis squamosa, causal agent of onion blast, were tested toward their resistance to benomyl and iprodione, by the method of fungicide incorporation in the growth medium. Resistant isolates were obtained from onion fields treated with benomyl. These isolates grew in PDA containing 1000 ppm of benomyl. Isolates from places where no benomyl treatment was applied were sensitive to 1 ppm of this fungicide. All isolates were considered to be sensitive to iprodione, since they showed little or no mycelial growth in a growth medium containing 10 ppm of the fungicide.

Resistant strains to benomyl, iprodione and iprodione + benomyl, obtained under laboratory condition, did not have their sensibility to propiconazole altered; but, they showed a general tendency to be more sensitive to captan, captafol and mancozeb than the sensitive strain. Iprodione-resistant strains were also resistant to procymidone and dicloran.

INTRODUÇÃO

Antes do advento dos fungicidas sistêmicos, a resistência de fungos a fungicidas era de ocorrência rara em condições de campo. A inespecificidade dos produtos convencionais, isto é, a capacidade de interferir em numerosos processos metabólicos vitais, tornava difícil o surgimento de linhagens resistentes. Com o crescente e intensivo uso dos fungicidas sistêmicos, houve o surgimento do problema, visto que tais produtos se caracterizam por uma alta seletividade, agindo em poucos processos do metabolismo do patógeno que, dessa forma, podem ser mais facilmente transpostos (DEKKER & GEORGOPOULOS, 1982).

O surgimento de populações de fungos resistentes acarreta em descrédito e prejuízos para as indústrias agroquímicas, perdas para os agricultores e, conseqüentemente, maiores custos para o consumidor. A possibilidade de ocorrência de resistência produz incertezas para as firmas fabricantes durante o desenvolvimento de um novo produto. Após a introdução no mercado, se for constatado o problema, o uso do composto tem que ser restringido ou até mesmo abandonado, ocasionando graves dificuldades para o agricultor se não houver uma alternativa de controle adequada (KIMATI, 1987).

Quando ocorre falha no controle de uma doença, após repetidas aplicações de um fungicida, originariamente eficiente, testes em laboratório ou em casa de vegetação podem comprovar se a causa foi o desenvolvimento de resistência ao produto em questão. Entretanto, as perdas seriam evitadas se, antes do aparecimento do problema, informações fossem obtidas em experimentos com fungos, *in vitro* ou *in vivo*, sobre as chances do surgimento de resistência na prática (DEKKER & GEORGOPOULOS, 1982).

Face a esta situação, o estudo da ocorrência de resistência em *Botrytis squamosa* é de grande interesse para o controle quí-

mico da Queima das Pontas de cebola, visto ser uma doença de constatação sintomática freqüente e que causa sérios prejuízos a esta cultura (GHINI, 1984). Entre as hortaliças, a cebola apresenta considerável consumo de fungicidas sistêmicos, sendo que o contínuo uso desses produtos cria uma intensa pressão de seleção que, muito provavelmente, poderá resultar no surgimento de linhagens resistentes.

O presente trabalho, visando estudar o problema apontado, tem por objetivos:

1) Determinação da freqüência e grau de resistência a benomyl e iprodione de linhagens de *Botrytis squamosa* obtidas em culturas de cebola;

2) Determinação da sensibilidade colateral das linhagens de *B. squamosa* a outros fungicidas utilizados na cultura de cebola.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Isolamento

Os isolamentos foram realizados a partir de folhas de cebola (*Allium cepa* L.) com sintoma de queima das pontas, de diferentes procedências (Quadro 1), segundo metodologia apresentada por GHINI (1984).

2. Freqüência e grau de resistência

A freqüência e o grau de resistência a fungicidas dos isolados de *Botrytis squamosa* foram testados através do método do fungicida incorporado ao meio de cultura.

Os isolados foram repicados, através de discos de meio de cultura contendo micélio (diâmetro de 0,7 cm), para placas de Petri contendo BDA com concentrações de 0,1, 10, 100 e 1000 ppm de benomyl (Benlate 500) e iprodione (Rovfal), em duas e três repetições, respectivamente.

As suspensões de benomyl foram feitas em acetona 20% e as suspensões de iprodio-

Quadro 1. Origem dos isolados de *Botrytis squamosa*.

| Isolado | Data de coleta | Local de coleta | Variedade de cebola | Fungicidas aplicados no campo |
|---------|----------------|-----------------|---------------------|-------------------------------------|
| P4 | 10/11/83 | Piracicaba (SP) | Grupo Agregatum | nenhum |
| P5 | 10/11/83 | Piracicaba (SP) | Grupo Agregatum | nenhum |
| Pd6 | 13/09/82 | Piedade (SP) | Baia Periforme | benomyl, mancozeb |
| Pd8 | 27/09/83 | Piedade (SP) | Granex 33 | benomyl, mancozeb |
| Pd16 | 27/09/83 | Piedade (SP) | Granex 33 | benomyl, mancozeb |
| Pd17 | 27/09/83 | Piedade (SP) | Granex 33 | benomyl, mancozeb |
| Pd21 | 27/09/83 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, mancozeb |
| Pd22 | 27/09/83 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, mancozeb |
| Pd27 | 27/09/83 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, mancozeb |
| Pd28 | 27/09/83 | Piedade (SP) | Baia Periforme | benomyl, mancozeb |
| Pd32 | 11/10/83 | Piedade (SP) | Baia Periforme | benomyl, mancozeb |
| Pd39 | 03/09/84 | Piedade (SP) | Baia Periforme | benomyl, mancozeb |
| Pd41 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Pira Ouro | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd42 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Pira Ouro | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd43 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Pira Ouro | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd44 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Pira Ouro | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd46 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd47 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd48 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd49 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd50 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd51 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd52 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd53 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd55 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Piracicaba | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd56 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Periforme | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd57 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Periforme | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd58 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Periforme | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd59 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Periforme | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd60 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Baia Periforme | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd61 | 16/10/84 | Piedade (SP) | Pira Ouro | benomyl, iprodione, mancozeb |
| Pd63 | 27/08/86 | Piedade (SP) | Baia Periforme | oxicloreto de cobre, chlorothalonil |
| Pd64 | 27/08/86 | Piedade (SP) | Baia Periforme | oxicloreto de cobre, chlorothalonil |
| Pd65 | 27/08/86 | Piedade (SP) | Baia Periforme | oxicloreto de cobre, chlorothalonil |
| Pd66 | 27/08/86 | Piedade (SP) | Baia Periforme | oxicloreto de cobre, chlorothalonil |
| Pd67 | 27/08/86 | Piedade (SP) | Baia Periforme | oxicloreto de cobre, chlorothalonil |
| SC19 | 15/08/83 | Itaporanga (SC) | Creola | |

ne em água destilada. O iprodione foi incorporado ao meio de cultura fundido e resfriado a, aproximadamente, 45°C, sendo que o benomyl foi adicionado antes da autoclavagem.

A incubação foi realizada a 20°C, no escuro, sendo a avaliação feita após dois dias, determinando-se o crescimento linear através de medições de diâmetro médio das culturas, exceto para os isolados Pd63 até Pd67, cuja resistência a benomyl foi avaliada com 6 dias de idade.

3. Sensibilidade colateral

Dois ensaios foram realizados para avaliar a sensibilidade colateral das linhagens de *B. squamosa*, através do método de fungicida incorporado ao meio de cultura. No primeiro foram utilizados os seguintes isolados obtidos em produções comerciais de cebola: P4, Pd17 e Pd32 para mancozeb (Dithane M 45) e os isolados P4, Pd8, Pd17, Pd27, Pd32, Pd44, Pd58 e SC19 para captafol (Difolatan 480), captan (Orthocide 750), dicloran (Botran 75PM), procymidone (Sumilex) e propiconazol (Tilt).

As suspensões estoque de fungicidas, para o primeiro ensaio, foram feitas em acetona 20% para benomyl, em álcool etílico 20% para captan, captafol, dicloran, mancozeb, propiconazol e procymidone e em água destilada para iprodione. De cada suspensão estoque, foi feita diluição em série, tomada uma alíquota de 1 ml e transferida para o meio de cultura de BDA fundido e resfriado a, aproximadamente, 45°C (exceto benomyl, que foi acrescentando antes da autoclavagem), de tal forma a se obter concentrações, de 1, 10, 100 e 1000 ppm. De forma análoga foi preparada a testemunha sem a adição de fungicida.

No segundo ensaio foram testadas as linhagens: P4 (sensíveis a benomyl e iprodione); Pd27 e Pd67 (resistentes a benomyl e sensíveis a iprodione); P4BSIR (obtida

em condições de laboratório, sensível a benomyl e resistente a iprodione) e IUVI (obtida em condições de laboratório, resistente a benomyl e iprodione). Os fungicidas utilizados foram; benomyl (Benlate 500), iprodione (Rovral), procymidone (Dicyclidine 50%), captan (Captan 750), captafol (Orthodifolatan 70), dicloran (Botran 75 PM), mancozeb (Dithane M45) e propiconazol (Tilt). Para o preparo dos meios de cultura com fungicida, foi feita uma suspensão estoque dos produtos em álcool etílico 20% (exceto iprodione que foi suspenso em água destilada), sendo tomada uma alíquota constante de 1 ml de cada solução e transferida para 300 ml de BDA fundente (45°C, aproximadamente), de tal forma a se obter a concentração de 100 ppm. Simultaneamente, foi preparada a testemunha sem a adição de fungicida.

Nos dois ensaios as linhagens foram transferidas para as placas de Petri através de discos de meio de cultura contendo micélio (diâmetro de 0,7 cm), em 3 repetições, e incubadas no escuro a 20°C, durante dois e quatro dias para o primeiro e o segundo ensaio, respectivamente. A avaliação foi feita através da medição do diâmetro médio das culturas.

RESULTADOS

1. Frequência e grau de resistência

A partir do crescimento micelial em meio de cultura contendo diferentes concentrações de benomyl, os isolados de *B. squamosa* podem ser classificados quanto a sensibilidade aos fungicidas (Quadros 2 e 3). Os isolados P4 e P5 apresentaram-se sensíveis ao produto, sendo o seu crescimento inibido pela concentração de 1 ppm. Os demais isolados cresceram em todas as concentrações testadas de benomyl, entretanto, houve uma redução no crescimento micelial com o aumento da concentração de benomyl.

Quadro 2. Efeito de dosagens de benomyl no crescimento micelial de isolados de *Botrytis squamosa*.

| Isolado | Concentração de benomyl (PPM) | | | | | Média |
|---------|--|-------------|-------------|-------------|-------------|----------|
| | 0 | 1 | 10 | 100 | 1000 | |
| P4 | 3,05 ⁽¹⁾ ab ⁽²⁾ A | 0b B | 0b B | 0b B | 0b B | 0,61e |
| P5 | 3,45ab A | 0b B | 0b B | 0b B | 0b B | 0,69e |
| Pd6 | 3,35ab A | 3,15a A | 3,35a A | 2,55a A | 0,65a B | 2,61ab |
| Pd16 | 2,80ab A | 2,30a A | 2,25a A | 2,20a A | 0,35a B | 1,98bcd |
| Pd17 | 3,55a A | 3,20a A | 3,50a A | 2,40a A | 0,80a B | 2,69ab |
| Pd21 | 3,20ab A | 3,15a A | 3,30a A | 2,60a A | 1,00a B | 2,65ab |
| Pd27 | 3,55a A | 3,40a A | 3,35a A | 2,55a A | 0,95a B | 2,76a |
| Pd32 | 3,20ab A | 3,05a A | 3,20a A | 2,60a A | 0,55a B | 2,52ab |
| Pd39 | 1,80b A | 2,05a A | 2,10a A | 1,65a AB | 0,45ab B | 1,61d |
| Pd41 | 2,55ab A | 2,05a A | 2,00a A | 1,50a AB | 0,40ab B | 1,70cd |
| Pd43 | 3,40ab A | 3,35a A | 3,10a A | 2,30a B | 0,75a B | 2,58ab |
| Pd44 | 3,25ab A | 2,95a A | 2,90a A | 2,05a AB | 0,80a B | 2,39abc |
| Pd47 | 3,35ab A | 3,15a A | 3,20a A | 2,55a A | 0,65a B | 2,58ab |
| Pd48 | 3,30ab A | 3,35a A | 3,05a A | 2,50a A | 0,65a B | 2,57ab |
| Pd50 | 3,35ab A | 3,40a A | 3,50a A | 2,60a A | 0,70a B | 2,71ab |
| Pd51 | 3,75a A | 3,40a AB | 3,65a AB | 2,45a B | 0,60a C | 2,77a |
| Pd52 | 2,90ab A | 2,65a A | 2,75a A | 1,80a A | 0,50a B | 2,12abcd |
| Pd53 | 2,80ab A | 2,75a A | 2,90a A | 1,70a AB | 0,65a B | 2,16abcd |
| Pd55 | 3,10ab A | 2,85a A | 2,85a A | 1,90a A | 0,55a B | 2,25abcd |
| Pd57 | 3,00ab A | 3,05a A | 3,00a A | 2,55a A | 0,85a B | 2,49ab |
| Pd58 | 3,05ab A | 3,30a A | 3,40a A | 2,15a A | 0,70a B | 2,52ab |
| Pd59 | 2,70ab A | 2,55a A | 2,65a A | 2,30a A | 0,65a B | 2,17abcd |
| Média | 3,11A | 2,73B | 2,69B | 2,04C | 0,60D | |

C.V. = 20,58%.

(1) Diâmetro médio de colônias (cm) de 2 repetições, com 2 dias de idade.

(2) Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, sendo que letras à direita das médias são para comparações de isolados dentro de concentrações e letras abaixo, para comparações de concentrações dentro de isolados (Tukey, 5%).

Para os diâmetros médios de crescimento dos isolados resistentes a benomyl, apresentados no Quadro 2, foi realizada uma regressão linear: $y = 1,09175 - 0,247375x$, sendo: y = diâmetro da cultura (cm), x = logaritmo de concentração de benomyl (ppm); teste $F = 171,08$.

Dessa forma foi obtido o ED50 (concentração do fungicida capaz de inibir 50% do crescimento do isolado) de 246 ppm de benomyl.

Os isolados foram considerados sensíveis a iprodione visto que apresentaram pouco ou nenhum crescimento micelial em meio de cultura contendo 10 ppm do fungicida, sendo o crescimento totalmente inibido com 100 e 1000 ppm (Quadro 4).

2. Sensibilidade colateral

No primeiro ensaio, onde foram testados diferentes fungicidas em diversas concentrações, os isolados de *B. squamosa*, obtidos em condições de campo, apresentaram crescimento micelial em meios de cultura contendo somente baixas concentrações de captan, dicloran, procymidone e propiconazol, sendo portanto considerados sensíveis a esses fungicidas. Para captafol e mancozeb, alguns isolados foram capazes de crescer em todas as concentra-

ções testadas. A partir desses resultados foi calculada a faixa de concentrações de fungicidas que contém o ED50 para cada isolado testado (Quadro 5).

No segundo ensaio, as linhagens sensíveis a benomyl (P4 e P4BSIR) e as sensíveis a iprodione (P4, Pd27 e Pd67) não cresceram em meio de cultura contendo esses fungicidas na concentração testada (100 ppm), ao passo que as resistentes cresceram, como podem ser observados, de forma qualitativa, os resultados do Quadro 6. Houve resistência cruzada entre iprodione, procymidone e dicloran. Nenhuma linhagem cresceu em meio de cultura contendo propiconazol.

DISCUSSÃO

Do levantamento de frequência de resistência a benomyl dos isolados de *B. squamosa*, ficou demonstrado que a pressão de seleção exercida pela aplicação deste fungicida deu origem ao desenvolvimento de linhagens resistentes. Assim sendo, P4 e P5, obtidos em Piracicaba (SP), em culturas onde este fungicida não foi utilizado, apresentaram-se sensíveis a benomyl. Por outro lado, os isolados procedentes de culturas onde tal fungicida foi utilizado,

Quadro 3. Efeito de dosagens de benomyl no crescimento micelial de isolados de *Botrytis squamosa*.

| Isolado | Concentração de benomyl (PPM) | | | | | Média |
|---------|-------------------------------|------|------|------|------|-------|
| | 0 | 1 | 10 | 100 | 1000 | |
| Pd63 | 7,30 ⁽¹⁾ | 7,88 | 6,30 | 2,63 | 0,80 | 6,03 |
| Pd64 | 7,88 | 7,35 | 6,58 | 3,80 | 1,00 | 5,32 |
| Pd65 | 8,30 | 7,55 | 7,25 | 4,20 | 0,70 | 5,60 |
| Pd66 | 8,30 | 8,05 | 7,88 | 4,23 | 1,25 | 5,94 |
| Pd67 | 8,30 | 8,30 | 8,30 | 3,83 | 0,85 | 5,92 |
| Média | 8,02 | 7,83 | 7,26 | 3,74 | 0,92 | |

(1) Diâmetro médio de colônias (cm) de 2 repetições, com 6 dias de idade.

Quadro 4. Efeito de dosagens de iprodione no crescimento micelial de isolados de *Botrytis squamosa*.

| Isolado | Concentração de iprodione (PPM) | | | Média |
|---------|--|--------------|-----------|----------------|
| | 0 | 1 | 10 | |
| P4 | 1,73 ⁽¹⁾ ijklmn ⁽²⁾ A | 0,53abc B | 0 C | 0,76 fghijkl |
| Pd6 | 1,16no A | 0,46abc B | 0 C | 0,54klm |
| Pd8 | 1,56jklmno A | 0,40abc B | 0 C | 0,66 ijklm |
| Pd16 | 2,80ab A | 0,96a B | 0,23 C | 1,33a |
| Pd17 | 2,73abcd A | 0,63abc B | 0 C | 1,12abcde |
| Pd21 | 2,13defghij A | 0,70abc B | 0,10 C | 0,98abcdefghi |
| Pd22 | 1,40klmno A | 0,20bc B | 0 B | 0,53klm |
| Pd27 | 1,96fghijk A | 0,66abc B | 0 C | 0,88cdefghijkl |
| Pd28 | 2,80ab A | 0,67abc B | 0,06 C | 1,18abcd |
| Pd32 | 2,86ab A | 0,73ab B | 0,10 C | 1,23abc |
| Pd39 | 1,33lmno A | 0,76ab B | 0 C | 0,70hijklm |
| Pd41 | 1,00o A | 0,10c B | 0 B | 0,37m |
| Pd42 | 2,76abc A | 0,66abc B | 0,03 C | 1,16abcd |
| Pd43 | 2,63abcde A | 0,76ab B | 0,03 C | 1,14abcde |
| Pd44 | 2,76abc A | 0,70abc B | 0 C | 1,16abcd |
| Pd46 | 1,63jklmn A | 0,33bc B | 0 B | 0,66ijklm |
| Pd47 | 1,96fghijk A | 0,76ab B | 0 C | 0,91bcdefghij |
| Pd48 | 1,90ghijklm A | 0,43abc B | 0,03 C | 0,79efghijkl |
| Pd49 | 2,36abcdefgh A | 0,50abc B | 0,06 C | 0,98abc defghi |
| Pd50 | 2,30bcdefghi A | 0,76ab B | 0,13 C | 1,07abc defg |
| Pd51 | 1,66jklmn A | 0,40abc B | 0,06 B | 0,71ghijklm |
| Pd52 | 1,80hijklm A | 0,60abc B | 0,13 C | 0,84defghijkl |
| Pd53 | 1,33lmno A | 0,40abc B | 0 C | 0,58jklm |
| Pd55 | 1,00o A | 0,56abc B | 0 C | 0,52lm |
| Pd56 | 2,16cdefghij A | 0,40abc B | 0 C | 0,86defghijkl |

Continua

Quadro 4. (Continuação)

| Isolado | Concentração de iprodione (PPM) | | | Média |
|---------|---------------------------------|--------------|-----------|----------------|
| | 0 | 1 | 10 | |
| Pd57 | 2,06efghij A | 0,56abc B | 0,03 C | 0,89bcdefghijk |
| Pd58 | 2,96a A | 0,66abc B | 0,10 C | 1,24ab |
| Pd59 | 2,53abcdef A | 0,56abc B | 0 C | 1,03abcdefgh |
| Pd60 | 1,93fghijkl A | 0,43abc B | 0 C | 0,79efghijkl |
| Pd61 | 2,50abcdefg A | 0,73ab B | 0 C | 1,08abcdef |
| SC19 | 1,30mno A | 0,33bc B | 0 B | 0,54klm |
| Média | 2,04A | 0,56B | 0,04C | |

C.V. = 15,88%.

(1) Diâmetro médio de colônia (cm) de 3 repetições, com 2 dias de idade.

(2) Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, sendo que letras à direita das médias são para comparações de isolados dentro de concentrações e letras abaixo, para comparações de concentrações dentro de isolados (Tukey, 5%).

Quadro 5. Faixa de concentração de fungicidas que contém o ED50⁽¹⁾ dos isolados de *Botrytis squamosa*.

| Isolado | Fungicidas (PPM) | | | | | |
|---------|------------------|--------|----------|----------|-------------|--------------|
| | Captafol | Captan | Dicloran | Mancozeb | Procymidone | Propiconazol |
| P4 | 1-10 | 10-100 | 1-10 | 100-1000 | 0-1 | 0-1 |
| Pd8 | 1-10 | 10-100 | 0-1 | | 0-1 | 0-1 |
| Pd17 | 1-10 | 10-100 | 0-1 | 10-100 | 0-1 | 0-1 |
| Pd27 | 1-10 | 10-100 | 0-1 | | 0-1 | 0-1 |
| Pd32 | 1-10 | 10-100 | 0-1 | 10-100 | 0-1 | 0-1 |
| Pd44 | 1-10 | 10-100 | 0-1 | | 0-1 | 0-1 |
| Pd58 | 1-10 | 10-100 | 1-10 | | 0-1 | 0-1 |
| SC19 | 10-100 | 10-100 | 0-1 | | 0-1 | 0-1 |

(1) ED50 – Dose do fungicida suficiente para inibir 50% do crescimento micelial.

isto é, do Município de Piedade (SP), comportaram-se como resistentes ao produto, como ocorreu com diversos patógenos em diferentes culturas onde este produto foi utilizado (DAVIDSE, 1982). Além disso, houve uma diferença acentuada entre o

nível de resistência das linhagens resistentes (1000 ppm) e as sensíveis (1 ppm), sem a constatação de resistência intermediária, como também foi observado por diversos autores (GEORGOPOULOS & DOVAS, 1973; MILLER & FLETCHER, 1974;

GEESON, 1976; CHO, 1977; GRINDLE, 1979; PRESLY & MAUDE, 1980 e RUPPEL et al., 1980). Para iprodione, a situação verificada foi diferente da constatada para benomyl. Todos os isolados testados apresentaram-se sensíveis a este fungicida.

Segundo DELP (1980), os benzimidazóis representam o início dos graves problemas com o surgimento de resistência na história dos fungicidas. O mesmo autor explica que isto ocorreu não somente porque os benzimidazóis foram extensiva e intensivamente utilizados, mas também porque são inibidores de um sítio específico do metabolismo do patógeno (DAVIDSE & FLACH, 1977).

Por outro lado, segundo BEEVER & BYRDE (1982), linhagens resistentes a dicarboximidas têm sido obtidas tanto em condições de campo quanto de laboratório. Todavia, são poucos os exemplos de falhas no controle de doenças devido a resistência do patógeno a estes fungicidas. Para POMMER & LORENZ (1982), experimentos em laboratório tem mostrado que fungos do gênero *Botrytis* se tornam resistentes a crescentes concentrações de dicarboximidas com ou sem o uso de agentes mutagênicos. Entretanto, o rápido desenvolvimento de resistência *in vitro* não implica necessaria-

mente em um rápido surgimento de resistência em condições de campo. As observações têm indicado que a resistência aos dicarboximidas não ocorre tão rapidamente em condições naturais, como ocorre nos laboratórios.

Apesar de não terem sido relatados casos de resistência a dicarboximidas para *Botrytis squamosa* em culturas de cebola, PRESLY & MAUDE (1982) estudaram a possibilidade de surgimento do problema a partir de linhagens resistentes e sensíveis a benomyl. Foram obtidas *in vitro*, linhagens capazes de crescer em meio de cultura contendo 4, 20, 100, 500 e 2500 ppm de iprodione. Estas linhagens apresentaram menor crescimento micelial na ausência do fungicida, menor capacidade de esporulação e foram menos patogênicas que as linhagens sensíveis. Entretanto, a resistência não foi perdida após diversas transferências na ausência do fungicida.

Embora não tenha havido perdas associadas com o desenvolvimento de resistência a dicarboximidas, BEEVER & BRIEN (1983) afirmam que há evidências de que a presença de linhagens resistentes pode levar à redução da eficácia do fungicida, e, sob condições de alta pressão de doença, não controle da doença. Além disso, a

Quadro 6. Efeito de fungicidas no crescimento micelial de linhagens de *Botrytis squamosa*.

| Linhagem | Fungicidas ⁽¹⁾ | | | | | | | Testemunha | |
|----------|---------------------------|-----------|----------|--------|----------|----------|--------------|------------|--------------|
| | Benomyl | Iprodione | Captafol | Captan | Dicloran | Mancozeb | Propiconazol | | Procyimidone |
| P4 | 0 ⁽²⁾ | 0 | 0,45 | 0,25 | 0 | 2,70 | 0 | 0 | 5,17 |
| Pd27 | 1,93 | 0 | 0,07 | 0,17 | 0 | 2,73 | 0 | 0 | 6,05 |
| Pd67 | 1,28 | 0 | 0,12 | 0 | 0 | 2,78 | 0 | 0 | 4,92 |
| P4BSIR | 0 | 2,70 | 0 | 0 | 1,70 | 0 | 0 | 3,87 | 4,53 |
| IUVI | 1,90 | 2,32 | 0,42 | 0,10 | 1,20 | 2,80 | 0 | 3,75 | 4,23 |

(1) Concentração de 100 ppm em meio de cultura de BDA.

(2) Diâmetro médio (cm) de colônias de 3 repetições, com 4 dias de idade.

longo termo, com a exposição de linhagens com baixo nível de resistência à seleção do fungicida, pode ocorrer aumento da adaptabilidade e do grau de resistência.

Para GEORGOPOULOS (1982), quando ocorre falha no controle de uma doença devido ao desenvolvimento de resistência do patógeno a um fungicida, na prática é importante verificar se a efetividade de outros fungicidas foi afetada. O estudo da sensibilidade colateral dos isolados de *B. squamosa* mostrou que a resistência a iprodione acarreta em resistência a procymidone e dicloran, isto é, há resistência cruzada entre esses fungicidas. Linhagens resistentes a benomyl, a iprodione e a iprodione + benomyl não tiveram alteradas suas sensibilidades ao fungicida propiconazol, pertencente ao grupo dos inibidores da síntese de esterol, porém houve uma tendência geral de se mostrarem mais sensíveis ao captan, captafol e mancozeb do que a linhagem sensível.

LITERATURA CITADA

01. BEEVER, R.E. & BRIEN, H.M.R. A survey of resistance to the dicarboximide fungicides in *Botrytis cinerea*. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, Wellington, 26:391-400, 1983.
02. BEEVER, R.E. & BYRDE, R.J.W. Resistance to the dicarboximide fungicide. In: DEKKER, J. & GEORGOPOULOS, S.G., ed. *Fungicide resistance in crop protection*. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. p.101-17.
03. CHO, J.J. Shoot and flower blight of *Leucospermum cordifolium* incited by a benomyl tolerant strain of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, St. Paul, 67:124-7, Jan. 1977.
04. DAVIDSE, L.C. Benzimidazole compounds; selectivity and resistance. In: DEKKER, J. & GEORGOPOULOS, S.G., ed. *Fungicide resistance in crop protection*. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. p.60-70.
05. DAVIDSE, L.C. & FLACH, W. Differential binding of methyl benzimidazol-2-yl carbamate to fungal tubulin as a mechanism of resistance to this antimitotic agent in mutant strains of *Aspergillus nidulans*. *The Journal of Cell Biology*, New York, 72:174-93, 1977.
06. DEKKER, J. & GEORGOPOULOS, S.G. *Fungicide resistance in crop protection*. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. 265p.
07. DELP, C.J. Coping with resistance to plant disease control agents. *Plant Disease*, St. Paul, 64(7):652-7, 1980.
08. GEESON, J.D. Comparative studies of methyl-benzimidazol-2-yl carbamate-tolerant and sensitive isolates of *Botrytis cinerea* and other fungi. *Transactions British Mycological Society*, London, 66(1):123-9, 1976.
09. GEORGOPOULOS, S.G. Cross-resistance. In: DEKKER, J. & GEORGOPOULOS, S.G., ed. *Fungicide resistance in crop protection*. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. p.53-9.
10. GEORGOPOULOS, S.G. & DOVAS, C. A serious outbreak of strain of *Cercospora beticola* resistant to benzimidazole fungicides in Northern Greece. *Plant Disease Reporter*, Washington, 57(4): 321-4, abr. 1973.
11. GHINI, R. Caracterização morfológica, serológica e patogênica de espécies de *Botrytis* que ocorrem na cultura de cebola (*Allium cepa* L.). Piracicaba, 1984. 53p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/ USP).
12. GRINDLE, M. Phenotypic differences between natural and induced variants of *Botrytis cinerea*. *Journal of General Microbiology*, London, 111:109-20, 1979.

13. KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas e a importância do monitoramento. *Agrotécnica*, São Paulo, (1):5-7, 1987.
14. MILLER, M.W. & FLETCHER, J.T. Benomyl tolerance in *Botrytis cinerea* isolates from glasshouse crops. *Transactions British Mycological Society*, London, 62(1):99-103, 1974.
15. POMMER, E.H. & LORENZ, G. Resistance of *Botrytis cinerea* Pers. to dicarboximide fungicides – a literature review. *Crop Protection*, Guildford, 1(2):221-30, 1982.
16. PRESLY, A.H. & MAUDE, R.B. The effect of seed treatment with benzimidazole – based fungicides on infection of the foliage of overwintered salad onions by *Botrytis cinerea*. *Annals of Applied Biology*, Wellesbourne, 94:185-96, 1980.
17. PRESLY, A.H. & MAUDE, R.B. Tolerance in *Botrytis squamosa* to iprodione. *Annals of Applied Biology*, Wellesbourne, 100:117-27, 1982.
18. RUPPEL, E.G.; JENKINS, A.D.; BURTCH, L.M. Persistence of benomyl – tolerant strains of *Cercospora beticola* in the absence of benomyl. *Phytopathology*, St. Paul, 70(1):25-6, 1980.