

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CÂMPUS DE BOTUCATU

**METODOLOGIA E AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA DE *Sphaerotheca*  
*fuliginea* A FUNGICIDAS EM CUCURBITÁCEAS**

**ANDRÉA IRUZUN LINHARES**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas – Unesp, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração Proteção de Plantas.

BOTUCATU – SP

Junho – 2002

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CÂMPUS DE BOTUCATU

**METODOLOGIA E AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA DE *Sphaerotheca  
fuliginea* A FUNGICIDAS EM CUCURBITÁCEAS**

**ANDRÉA IRUZUN LINHARES**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Raquel Ghini

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas – Unesp, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração Proteção de Plantas.

BOTUCATU – SP

Junho – 2002

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E  
TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO  
SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - FCA  
UNESP - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

L755m Linhares, Andréa Iruzun, 1968-  
Metodologia e avaliação de resistência de *Sphaerotheca fuliginea* a fungicidas em cucurbitáceas / Andréa Iruzun  
Linhaires. -- Botucatu, [s.n.], 2002  
x, 87 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) -- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas  
Orientador: Raquel Ghini  
Inclui bibliografia

1. Pepino 2. Cucurbitácea 3. Plantas - Resistência a doenças e pragas 4. Oídio  
I. Ghini, Raquel II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas III. Título

Palavras-chave: Resistência a fungicidas; Fungicidas inibidores da demetilação (DMIs); Fungicidas benzimidazóis; Azoxystrobin; *Sphaerotheca fuliginea*; Oídio; Pepino

Ao colega e esposo Idalmir dos Santos, com profunda gratidão, pelo amparo emocional, ajuda nos trabalhos, companhia e incentivos dispensados todos os dias.

### **OFEREÇO**

A minha filha Maria Regina Linhares dos Santos

### **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raquel Ghini pela orientação, apoio e dedicação oferecidos para a execução desse trabalho.

À Capes pela concessão de bolsa de estudos.

À pesquisadora da Universidade de Cornell, Depto. de Patologia de Plantas, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margaret T. McGrath pelo atendimento solícito e contribuições.

À Embrapa Meio Ambiente pela infra-estrutura oferecida.

Aos professores e funcionários do Depto. de Produção Vegetal – Setor de Defesa Fitossanitária da Faculdade de Ciências Agrônomicas pela receptividade e auxílio.

Aos senhores Alexandre Marinho, Antônio de Souza, Carlos Marinho, César Luiz Lúcio, José Carlos Cimadon, Mauro Fujimoto, Ocimar Paporotti, Reinaldo Milani e Renato Blömker pela permissão concedida para coleta de isolados e informações prestadas.

Ao Dr. Carlos Alberto Lopes, ao Eng., Agrônomo Ms. Daniel Franco, à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elena Blume e ao Eng. Agrônomo Ms. Sérgio A. M. Nobre pela colaboração.

Aos amigos, colegas e funcionários do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Embrapa Meio Ambiente: Adriano Mazzeo, Aiessa A. Sardagna, Alex Moretini, Andréa Spessoto, Célia Maria. M. S. Silva, Cristiane S. de Oliveira, Daniel Franco, Flávia V. Nunes, Irene D. Schio, Juliano César da Silva, Kátia Cristina Levanteze, Mara Denise L. Mendes, Rosângela M. Quintino e Rosely dos S. Nascimento, pelo apoio e amizade.

A minha sogra, Maria Iracema, pela ajuda, dedicação e apoio dispensados.

A meus pais Aroldo e Walesca, pela ajuda e incentivos sempre acompanhados de um conforto especial.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>1 RESUMO</b> .....	1
<b>2 SUMMARY</b> .....	3
<b>3 INTRODUÇÃO</b> .....	6
<b>4 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	9
4.1 Agente causal, epidemiologia, danos e controle de oídio de cucurbitáceas.....	9
4.2 Sensibilidade de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> a fungicidas.....	13
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	25
5.1 Obtenção, manutenção e multiplicação de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> coletados em diferentes locais.....	25
5.1.1 Obtenção de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> .....	25
5.1.2 Preservação e multiplicação dos isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> .....	27
5.2 Identificação dos isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> .....	29
5.3 Comparação de métodos para verificar a sensibilidade a fungicidas.....	30
5.4 Sensibilidade de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> coletados de diferentes locais a DMIs, benzimidazóis e estrobilurina pelo teste do disco foliar.....	31
5.5 Teste de sensibilidade de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> a fungicidas pulverizados em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação.....	32
5.5.1 Primeiro ensaio: avaliação da sensibilidade de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> a fungicidas aplicados na dose recomendada em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação.....	33
5.5.2 Segundo ensaio: avaliação da sensibilidade de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> a diferentes concentrações de fungicidas em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação.....	34
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	36
6.1 Identificação dos isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> .....	36
6.2 Comparação de métodos para verificar a sensibilidade a fungicidas.....	39

	<b>Página</b>
6.3 Sensibilidade de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> coletados de diferentes locais a DMIs, benzimidazóis e estrobilurina pelo teste do disco foliar.....	43
6.4 Teste de sensibilidade de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> a fungicidas pulverizados em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação.....	55
6.4.1 Primeiro ensaio: avaliação da sensibilidade de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> a fungicidas aplicados na dose recomendada em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação .....	55
6.4.2 Segundo ensaio: avaliação da sensibilidade de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> a diferentes concentrações de fungicidas em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação .....	61
<b>7 CONCLUSÕES .....</b>	<b>75</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>76</b>

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro</b>	<b>Página</b>
1 Isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> coletados de cucurbitáceas de diferentes locais do Brasil.....	26
2 Porcentagem de germinação e presença de tubo germinativo bifurcado e corpos de fibrosina em conídios de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> .....	38
3 Concentração mínima inibitória (CMI) a fenarimol de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> obtidos de diferentes locais de cultivo.....	44
4 Concentração mínima inibitória (CMI) a tebuconazole de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> obtidos de diferentes locais de cultivo.....	44
5 Concentração mínima inibitória (CMI) a benomyl de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> obtidos de diferentes locais de cultivo.....	45
6 Concentração mínima inibitória (CMI) a tiofanato metílico de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> obtidos de diferentes locais de cultivo.....	45
7 Concentração mínima inibitória (CMI) a azoxystrobin de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> obtidos de diferentes locais de cultivo.....	46
8 Concentração mínima inibitória (CMI) dos isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> recuperados de plantas de pepino tratadas em casa de vegetação no final de dois cultivos e testados pelo método do disco foliar em suspensão com os fungicidas DMIs (primeiro ensaio).....	55
9 Concentração mínima inibitória (CMI) de isolados de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> recuperados de plantas de pepino tratadas em casa de vegetação no final de dois cultivos e testados pelo método do disco foliar em suspensão com os fungicidas benzimidazóis (primeiro ensaio).....	56
10 Severidade de oídio, <i>Sphaerotheca fuliginea</i> , em pepino cultivado em casa de vegetação, nas diferentes doses dos fungicidas fenarimol, tebuconazole e benomyl (primeiro cultivo do segundo ensaio).....	61
11 Severidade de oídio, <i>Sphaerotheca fuliginea</i> , em pepino cultivado em casa de vegetação, nas diferentes doses dos fungicidas fenarimol, tebuconazole e benomyl (segundo cultivo do segundo ensaio).....	62



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1 Escala diagramática para a determinação da severidade do oídio em cucurbitáceas, expressa em porcentagem da área foliar atacada.....	35
2 Crescimento do isolado JG1 de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos cotiledonares tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico em três variações do método do disco foliar: imersos em solução aquosa do fungicida, retirados de plantas de pepino pulverizadas com o fungicida e flutuando em solução aquosa do fungicida. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Duncan 5 %).....	40
3 Crescimento do isolado SAP de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos cotiledonares tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico em três variações do método do disco foliar: imersos em solução aquosa do fungicida, retirados de plantas de pepino pulverizadas com o fungicida e flutuando em solução aquosa do fungicida. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Duncan 5 %).....	40
4 Crescimento do isolado TT de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos cotiledonares tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico em três variações do método do disco foliar: imersos em solução aquosa do fungicida, retirados de plantas de pepino pulverizadas com o fungicida e flutuando em solução aquosa do fungicida. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Duncan 5 %).....	41
5 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de fenarimol, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com fenarimol: 0 = água; 0,5 = meia dose (10 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (20 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (40 mL.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação no primeira cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.....	65
6 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de fenarimol, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com tebuconazole: 0 = água; 0,5 = meia dose (37,5 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (75 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (150 mL.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.....	65

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
7 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de fenarimol, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com benomyl: 0 = água; 0,5 = meia dose (35 g.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (70 g.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (140 g.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações .....	66
8 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tebuconazole, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com fenarimol: 0 = água; 0,5 = meia dose (10 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (20 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (40 mL.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.....	66
9 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tebuconazole, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com tebuconazole: 0 = água; 0,5 = meia dose (37,5 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (75 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (150 mL.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.....	67
10 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tebuconazole, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com benomyl: 0 = água; 0,5 = meia dose (35 g.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (70 g.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (140 g.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações .....	67
11 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de benomyl, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com fenarimol: 0 = água; 0,5 = meia dose (10 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (20 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (40 mL.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.....	68
12 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de benomyl, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com tebuconazole: 0 = água; 0,5 = meia dose (37,5 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (75 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (150 mL.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.....	68

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
13 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de benomyl, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com benomyl: 0 = água; 0,5 = meia dose (35 g.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (70 g.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (140 g.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação na primeira repetição do segundo ensaio em duas avaliações.....	69
14 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com fenarimol: 0 = água; 0,5 = meia dose (10 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (20 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (40 mL.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.....	69
15 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com tebuconazole: 0 = água; 0,5 = meia dose (37,5 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (75 mL.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (150 mL.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.....	70
16 Área colonizada por <i>Sphaerotheca fuliginea</i> em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com benomyl: 0 = água; 0,5 = meia dose (35 g.100 L <sup>-1</sup> ); 1 = dose recomendada (70 g.100 L <sup>-1</sup> ); 2 = dobro da dose (140 g.100 L <sup>-1</sup> ), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações .....	70

## 1 RESUMO

O presente trabalho teve como objetivos comparar métodos de monitoramento de resistência de *Sphaerotheca fuliginea*, causador de oídio em cucurbitáceas, a fungicidas; avaliar a sensibilidade de isolados procedentes de vários locais a fungicidas e verificar a influência de doses de fungicidas na sensibilidade do patógeno. Foram comparados três variações de métodos de avaliação de resistência com discos cotiledonares: flutuando e imersos em solução aquosa do fungicida e retirados de plantas de pepino pulverizadas com fungicida. As culturas foram incubadas por 12 dias em sala de crescimento ( $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  e 12 h luz) e então avaliadas pela área foliar colonizada pelo patógeno. A sensibilidade de isolados, coletados na BA, no DF, em MG, RS e SP, foi verificada pelo método do disco foliar flutuando em solução do fungicida e a inoculação, as condições de crescimento e a avaliação conforme descrito acima. Determinou-se a concentração mínima inibitória (CMI) dos isolados para os fungicidas fenarimol (FE) e tebuconazole (TE) (nas concentrações de 0; 0,001; 0,01; 0,1 e  $1\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ); benomyl (BE) e tiofanato metílico (TM) (0; 6,3; 12,5; 25 e  $50\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e azoxystrobin (AZ) (0; 0,001; 0,003; 0,005; 0,01; 0,03; 0,05; 0,1; 0,3; 0,5 e  $1\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

Para verificar as mudanças na sensibilidade e comparar a eficiência dos fungicidas, foram realizados dois ensaios, com dois cultivos. Plantas de pepino foram cultivadas em vasos em casa de vegetação e inoculadas naturalmente com oídio. No primeiro ensaio, as plantas foram tratadas com água, FE, TE e BE nas doses recomendadas. Foram feitas quatro aplicações com intervalo de 15 dias. Isolados foram coletados de cada tratamento antes das aplicações e o método do disco foliar flutuando em solução do fungicida foi utilizado para verificar a sensibilidade através da CMI. Os

fungicidas utilizados foram FE e TE (0; 0,001; 0,01; 0,1 e 1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e BE e TM (0; 6,3; 12,5; 25 e 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ). No segundo ensaio, além dos tratamentos do primeiro, as plantas foram tratadas com meia dose e o dobro da dose dos fungicidas. Foram realizadas duas aplicações e a severidade da doença foi avaliada. O método aplicado *in vitro* e os fungicidas utilizados foram os mesmos do primeiro ensaio. Concluiu-se que o método do disco flutuando em solução do fungicida mostrou-se viável para verificar a sensibilidade de *S. fuliginea* a fungicidas. Os isolados coletados de locais de cultivo de cucurbitáceas apresentaram diferentes CMI's aos fungicidas testados e identificou-se perda de sensibilidade a DMIs, benzimidazóis e estrobilurina. Os benzimidazóis não foram eficientes no controle de *S. fuliginea*, devido ao desenvolvimento de resistência e, apesar da ocorrência de isolados com redução de sensibilidade aos DMIs, esses foram eficientes no controle de *S. fuliginea*. As diferentes doses de pulverização de benomyl não influenciaram a sensibilidade dos isolados quando o método do disco foliar flutuando em solução do fungicida foi utilizado. Ao contrário, no tratamento com fenarimol, só foi possível recuperar isolados do tratamento com metade da dose, comprovando a eficácia da dose recomendada no controle do patógeno. No tratamento com tebuconazole não foi possível recuperar nenhum isolado, também sendo eficiente no controle da doença.

## SUMMARY

METHODOLOGY AND EVALUATION OF RESISTANCE OF *Sphaerotheca fuliginea* TO FUNGICIDES IN CUCURBITS. Botucatu, 2002. 87p. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: Andréa Iruzun Linhares

Adviser: Raquel Ghini

The aim of this work was to compare methods for monitoring fungicide resistance of *Sphaerotheca fuliginea*, causal agent of powdery mildew of cucurbits; evaluate the fungicide sensitivity of isolates from many locals and to study the influence of fungicide doses in the sensitivity of the pathogen. Three variations of resistance methods were compared by floating and dipping cotyledon leaf disks in fungicide aqueous solution and obtained from cucumber plants treated with fungicide. The cultures were incubated at growth room ( $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  with a 12 h photoperiod) for 12 days before the evaluation of colonized foliar area by the pathogen. The fungicide sensitivity of isolates collected in BA, in DF, in MG, RS and SP, Brazil, was tested on cotyledon leaf disks floating on solution of the fungicide and the inoculation, the growth conditions and the evaluation were as described above. It was determined the minimum inhibit concentration (MIC) of the isolates for the fungicides fenarimol (FE) and tebuconazole (TE) (at the concentrations of 0; 0,001; 0,01; 0,1 and 1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ); benomyl (BE) and thiophanate methyl (TM) (0; 6,3; 12,5; 25 and 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) and azoxystrobin (AZ) (0; 0,001; 0,003; 0,005; 0,01; 0,03; 0,05; 0,1; 0,3; 0,5 and 1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ). To verify the changes in the sensitivity and to compare the efficiency of the fungicides two tests was carried out, repeated twice. Cucumber plants were growth in pots in a greenhouse and inoculated with powdery mildew. In the first test, the plants were treated with water, FE, TE and BE in the recommended

doses. Four foliar spray applications were done with interval of 15 days. Isolates were collected of each treatment before the applications and the method of the cotyledon disk floating in solution of the fungicide was used to verify the sensitivity through MIC. The fungicides used were FE and TE (0; 0,001; 0,01; 0,1 and 1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) and BE and TM (0; 6,3; 12,5; 25 and 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). In the second test, besides the treatments of the first test, the plants were treated with a half- and a two-fold-higher dose of the fungicides. Two applications were carried out and the disease evaluated by severity. The method applied *in vitro* and the used fungicides were the same of the first test. The method of the cotyledon disk floating in fungicide solution was viable to verify the sensitivity of *S. fuliginea* to fungicides. The isolates collected from commercial cucurbit cultures presented different MICs to the tested fungicides and it was identified resistance to DMIs, benzimidazoles and estrobilurin. The benzimidazoles were not efficient in the control of *S. fuliginea*, due to the resistance development. In spite of the isolates occurrence with reduced sensitivity to DMIs, the fungicides were efficient in the control of *S. fuliginea*. The foliar sprays doses with benomyl did not influence the sensitivity of the isolates when the method of cotyledon disk floating in solution of the fungicide was used. In contrast, with foliar spray doses of fenarimol, it was only possible to recover isolates at the lowest applied dose, confirming the efficacy of the recommended dose to control the pathogen. And with the foliar spray doses of tebuconazole it wasn't possible to recover none isolate, also being efficient to control the disease.

---

Keywords: fungicide resistance, DMIs, benzimidazole, azoxystrobin, *Sphaerotheca fuliginea*, powdery mildew, cucumber.

### 3 INTRODUÇÃO

A importância do estudo da resistência de fungos a fungicidas tem sua justificativa na ampla utilização dos produtos químicos favorecendo o surgimento da mesma, com maior destaque após a introdução dos fungicidas sistêmicos. Hoje, a resistência é considerada um dos principais problemas no controle químico de doenças fúngicas. Em grandes culturas, a utilização de produtos químicos é um dos métodos mais utilizados para o controle de doenças. A resistência a fungicidas é um fenômeno associado ao processo natural da evolução dos sistemas biológicos.

Para o usuário e o fabricante de produtos químicos, vários problemas estão associados ao aparecimento de linhagens resistentes, entre eles o prejuízo financeiro. Na agricultura, o tema tem sido tratado em inúmeros estudos, os quais compreendem, em geral, diminuição da sensibilidade, mecanismos de resistência envolvidos, possibilidade de resistência cruzada e múltipla, métodos para avaliar a resistência, monitoramento, estratégias anti-resistência e medidas a serem tomadas após o aparecimento do problema.



Os casos de resistência em diferentes patógenos estão associados, principalmente, aos fungicidas sistêmicos. Um dos exemplos mais dramáticos ocorre com os fungicidas benzimidazóis utilizados na medicina humana, veterinária e na agricultura e considerados de alto risco para ocorrência de resistência. Outro caso, são os inibidores da demetilação (DMIs) (“demethylation inhibiting”) amplamente usados na agricultura e na medicina e classificados como de risco médio.

Trabalhos que possam trazer informações a respeito do comportamento de populações fúngicas submetidas a tratamento químico são valiosos para ajudar a interpretar resultados frustrados de controle, que podem passar despercebidos pelo produtor, além de favorecer a organização de informações a respeito da eficiência e utilização dos produtos.

No entanto, no Brasil, ainda existe uma carência de publicações e resultados, sendo a maioria restrita a relatos de ocorrência de resistência com fungicida benomyl para os fungos *Botrytis cinerea*, *B. squamosa*, *Cercospora personatum*, *Colletotrichum fragariae*, *Cylindrocladium scoparium*, *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*, *Guinardia citricarpa*, *Glomerella cingulata*, *Monilinia fructicola*, *Mycosphaerella fragariae*, *Penicillium* sp. e *Venturia inaequalis* (Ghini & Kimati, 2002).

No caso de cucurbitáceas, a utilização de produtos químicos é uma das principais estratégias para controlar oídio, que está classificado entre as doenças de maior risco de desenvolvimento de resistência (Dekker, 1995). Pesquisas que forneçam alguma informação a respeito da sensibilidade de *Sphaerotheca fuliginea* aos fungicidas utilizados nas culturas são muito interessantes. Dados apresentados em trabalhos internacionais com alguns fungicidas, ilustram o desenvolvimento da resistência em oídio de cucurbitáceas.

Problemas com benomyl, por exemplo, apareceram em oídio em pepino cultivado em estufa, após uma ano de aplicação, nos Estados Unidos (Schroeder & Provvidenti, 1968; Schroeder & Provvidenti, 1969). O surgimento de resistência a fungicidas do grupo dos DMIs, ocasionando falhas no controle da doença também já foi constatado para *S. fuliginea* em cucurbitáceas (Hollomon et al., 1990; McGrath, 1996; McGrath et al., 1996).

Como alguns fungicidas DMIs e benzimidazóis estão registrados para o controle de oídio de cucurbitáceas no Brasil (Agrofit, 2002)<sup>1</sup>, justifica-se a elaboração do trabalho para contribuir com informações a respeito da mudança, ou não, de sensibilidade de *S. fuliginea* a fungicidas. Para tanto, o presente trabalho teve os seguintes objetivos:

1. Comparar métodos de monitoramento de resistência de *S. fuliginea* a fungicidas;
2. Comparar a sensibilidade de isolados de *S. fuliginea*, procedentes de diferentes locais de cultivo de cucurbitáceas, a fungicidas dos grupos dos DMIs, benzimidazóis e estrobilurinas;
3. Verificar a influência de doses de fungicidas na sensibilidade de *S. fuliginea*.

---

<sup>1</sup> Fonte: <http://200.252.165.4/agrofit/>- Consultado em 17/09/2002.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Agente causal, epidemiologia, danos e controle de oídio de cucurbitáceas

A doença conhecida por oídio é muito comum em cucurbitáceas cultivadas e selvagens. Os gêneros *Sphaerotheca* e *Erysiphe* são os mais comumente associados à doença (Bedendo, 1995; Kurozawa & Pavan, 1997). No Brasil, o oídio ocorre em grande número de cucurbitáceas, sendo que as mais afetadas são: pepino, melão, melancia, abóbora, cabaça, chuchu e bucha (Kurozawa & Pavan, 1997). A doença é causada pela fase imperfeita do patógeno, denominada *Oidium* sp., que é predominante na maior parte do mundo (Bedendo, 1995).

As fases perfeitas, *Sphaerotheca fuliginea*, mais recentemente *Podosphaera fuliginea* (Schltd.:Fr.) (Stadnik et al., 2001) e *Erysiphe cichoracearum*, podem

ser confundidas devido ao fato das duas espécies ocorrerem em cucurbitáceas e serem mais frequentes, tornando-se de maior importância econômica. A controvérsia entre as espécies é maior em países tropicais onde essas fases são raras ou nunca ocorrem devido às condições ambientais não apropriadas para a formação de cleistotécios. Apesar de apresentarem, segundo Stadnik et al. (2001), algumas diferenças em consequência das condições ambientais de crescimento, para separar as duas espécies são utilizadas características das formas perfeita e imperfeita. Em geral, forma dos conídios, presença de corpúsculos de fibrosina (estruturas encontradas nos conídios entre os vacúolos), forma do tubo germinativo e presença do apressório (Kooistra, 1968; Khan & Sharma, 1995) são critérios usados na distinção entre as espécies. Conídios de *S. fuliginea* apresentam corpúsculos de fibrosina, tubo germinativo simples e bifurcado e não apresentam formação de apressório. Por outro lado, conídios de *E. cichoracearum* não apresentam corpúsculos de fibrosina, apresentam tubo germinativo simples e formam apressório. A ocorrência de corpos de fibrosina pode ser influenciada por fatores ambientais, idade do hospedeiro e a espécie de *Sphaerotheca* envolvida (Khan & Sharma, 1995). Mas, é um critério aceitável para diferenciar os dois gêneros de oídio e foi utilizado nos trabalhos realizados por Reifschneider et al. (1985) e Borges (1997) para identificar o agente causal no Brasil.

Informações sobre oídios de várias espécies cultivadas e nativas da América do Sul foram compilados num livro por Stadnik & Rivera (2001). Ao contrário de outros oídios, que possuem em geral uma pequena gama de hospedeiros, *S. fuliginea* pode atacar diversas espécies da família Cucurbitaceae, conforme Stadnik et al. (2001). Para completarem o ciclo de vida, apesar de ocorrerem em regiões úmidas e de clima frio, os oídios são favorecidos por ambientes secos e quentes. Temperaturas entre 22-28°C, baixa umidade e luminosidade são

condições favoráveis para a ocorrência da doença em pepino, de acordo com Zambolim et al. (1997). O desenvolvimento e esporulação de *E. cichoracearum* são favorecidos por condições ambientais secas, ao passo que, *S. fuliginea* requer mais umidade e é mais freqüente em culturas protegidas (Kurozawa & Pavan, 1997). Nas condições do Vale do São Francisco, o oídio de cucurbitáceas, *S. fuliginea*, ocorre durante o ano todo (Dias et al., 1999).

Os danos associados a *S. fuliginea* podem ocorrer em toda a parte aérea das plantas, mas as folhas e caules são os mais atacados. Os sintomas iniciam-se com um crescimento branco pulverulento ocupando pequenas áreas que vão aumentando de tamanho e podem tomar toda a extensão do tecido (Kurozawa & Pavan, 1997). Segundo Sitterly (1978), a infecção de folhas jovens pode resultar em clorose geral e até mesmo, na morte das folhas. As folhas severamente atacadas tornam-se marrons e ressecadas. Sob condições ideais para o desenvolvimento, pode ocorrer desfolhamento prematuro quando o fungo cobre a superfície foliar. A importância do oídio em cucurbitáceas se deve à redução do rendimento e da qualidade de mercado. Segundo Paulus et al. (1969) e Dias et al. (1999), em infecção severa plantas de pepino atacadas perdem vigor e apresentam redução na qualidade dos frutos que modificam o sabor e apresentam diminuição no teor de açúcar. Além da estação de colheita ser abreviada, os frutos ficam pequenos e com qualidade muito ruim.

O controle através da resistência genética e a utilização de produtos químicos são os mais empregados para essa doença. No entanto, em locais com condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da doença e o uso de cultivares com alta suscetibilidade, o controle químico é o método mais empregado (Stadnik et al., 2001).

Práticas culturais como eliminação de plantas hospedeiras, uso de mudas saudáveis e irrigação por aspersão são alguns exemplos recomendados. Outros tipos de controle também podem ser empregados como: adubação silicatada, uso de detergentes, creolina, produto à base de sílica/argila, óleo mineral, sais de potássio, ácidos graxos, solução de bicarbonato de potássio, produto lácteo fermentado por *Lactobacillus* sp., indução de resistência, extratos de plantas e fungos e biocontrole com microrganismos (Stadnik et al., 2001).

O controle químico de oídio é fácil e, em geral, eficiente. Entre os fungicidas utilizados estão os de contato, à base de enxofre, e os sistêmicos que são mais eficientes e recomendados, porém são mais vulneráveis ao problema da resistência (Agrofit, 2002).

Os fungos causadores de oídio, devido à intensa capacidade de multiplicação e disseminação, apresentam maior risco de resistência, diferentemente dos demais fungos, pois aumentam as chances do surgimento e seleção de linhagens resistentes. A exposição do patógeno interfere na pressão de seleção, visto que colonizam partes da planta facilmente atingidas por fungicidas, aumentando o risco de resistência (Dekker, 1995). Em estufas, a situação pode ser grave quando a concentração do inóculo é alta e sem a entrada de fontes de inóculo externas, favorecendo a rápida seleção para resistência (Brent & Hollomon, 1998; Dekker, 1995).

A resistência do fungo a fungicidas vem sendo registrada na Austrália, nos Estados Unidos e na Europa, apresentando-se como sério problema (Hollomon et al., 1990; O'Brien, 1994; McGrath et al., 1996). Nos Estados Unidos somente três fungicidas sistêmicos em duas classes estão registrados para o controle de oídio em cucurbitáceas: benomyl e tiofanato metílico (benzimidazóis) e triadimefon (DMI). Devido ao uso quase exclusivo desse último, o

patógeno encontra-se exposto a uma grande pressão de seleção que favorece o aparecimento de isolados resistentes (McGrath, 1996; McGrath, 2001).

Os fungicidas utilizados em cucurbitáceas em diversos países, para o controle de oídio, compreendem produtos dos seguintes grupos: benzimidazóis, pirimidinas, triazóis, piperazinas, organofosforados, morfolininas e estrobilurinas e não sistêmicos, pertencentes aos grupos das ftalonitrilas, ftalimididas e heterocíclicos nitrogenados (Stadnik et al., 2001).

No Brasil, os fungicidas registrados para controlar oídio em cucurbitáceas são: bicarbonato de potássio, benzimidazol (tiofanato metílico); DMIs (pirimidina-fenarimol, imidazol-triflumizole, triazóis-difenoconazole, imibenconazole, tebuconazole, tetraconazole); cloronitrila (clorotalonil); inorgânico (enxofre), ftalimida (folpet), organofosforado (pirazofós), estrobilurinas (kresoxim-metil) quinometionato (Agrofit, 2002). Os de contato, principalmente a base de enxofre, podem resultar num bom controle da doença, mas os sistêmicos sobressaem dos demais pela eficiência (Kurozawa & Pavan, 1997).

#### **4.2 Sensibilidade de *Sphaerotheca fuliginea* a fungicidas**

No caso específico de oídio em cucurbitáceas, trabalhos com resistência começaram a surgir com a utilização do fungicida benomyl dando início aos relatos que se seguiram com outros fungicidas.

As investigações realizadas em oídio de cucurbitáceas tratam da redução da sensibilidade, redução de patogenicidade e adaptabilidade, programas de aplicação, frequência de populações resistentes e monitoramento da resistência em laboratório, cultivo protegido ou não. Os

principais fungicidas testados são: benzimidazóis, dinitrofenóis, DMIs, estrobilurinas, hidroxipirimidinas e organofosforados (Hollomon, 1978; Dekker & Gielink, 1979; Schepers, 1983; Huggenberger et al., 1984; Schepers, 1984a; Schepers, 1984b; Schepers, 1984c; Malathrakis, 1985; Schepers, 1985a; Schepers, 1985b; O'Brien, 1994; McGrath, 1996; McGrath et al., 1996; Del Pino et al., 1999).

Em geral, o estudo da resistência em *S. fuliginea* está associado com algum problema detectado com a falha no controle da doença. A avaliação da sensibilidade do patógeno é o principal tema dos trabalhos publicados.

O primeiro registro de ocorrência de resistência de *S. fuliginea* foi com o fungicida benomyl. A resistência foi detectada em testes de avaliações experimentais em estufas (Schroeder & Provvidenti, 1968; Schroeder & Provvidenti, 1969). Este fato foi seguido do surgimento de resistência a fungicidas benzimidazóis em oídio de cucurbitáceas em muitos países, tanto em estufa como a campo (Netzer & Dishon, 1970; Peterson, 1973; Iida, 1975; Dekker, 1977; Petsikos-Panayotarou, 1977; Schepers, 1984b; O'Brien, 1994; McGrath, 1996; McGrath et al., 1996).

Em um dos primeiros trabalhos publicados sobre resistência, Schroeder & Provvidenti (1968) avaliaram o comportamento sistêmico de benomyl para o controle de oídio em abóbora e pepino em casa de vegetação. Os autores observaram o desenvolvimento inicial de colônias distribuídas nas plantas tratadas com dosagens mais altas e suspeitaram do aparecimento de resistência do fungo ao fungicida. A seguir, os mesmos autores tentaram comprovar esta evidência e relataram que colônias individuais de isolados de oídio de cucurbitáceas, presumivelmente *S. fuliginea*, produzidas nas folhas de plantas cultivadas em solo encharcado com benomyl,



demonstraram ser resistentes ao fungicida. Avaliações de cucurbitáceas cultivadas a campo, em Nova Iorque, Estados Unidos da América, indicaram a ocorrência natural provável de formas resistentes de *S. fuliginea* a benomyl (Schroeder & Provvidenti, 1969). Como foi ressaltado no trabalho de Schroeder & Provvidenti (1969) que a ocorrência de resistência em oídio não era difundida devido ao fato de que benomyl ainda não estava em uso comercial, esse motivo pode explicar a não constatação de formas resistentes do fungo em trabalho conduzido por Paulus et al. (1969) em experimentos com benomyl.

Os autores Netzer & Dishon (1970) também comentaram uma alteração na sensibilidade de *S. fuliginea* a benomyl, em estudo onde procuravam o controle de outra doença em melões (*Cucumis melo*) cultivados em estufa. Os autores verificaram que algumas semanas após o tratamento, as plantas permaneceram livres de oídio, porém, após esse período a doença apareceu em várias partes da estufa, apesar do tratamento aplicado. Testes adicionais destacaram o aparecimento de estirpes do patógeno resistentes a benomyl. O aparecimento de oídio foi inesperado porque o material tinha sido testado com êxito em Israel por dois anos em campo e em estufa. Esse foi o primeiro caso de isolados de oídio resistentes a benomyl em Israel.

Na Grécia, Petsikos-Panayotarou (1977) trabalharam com benomyl e recuperaram, em laboratório, um isolado de *S. fuliginea* 3000 vezes mais resistente do que isolados obtidos de plantas cultivadas ao ar livre que nunca tinham sido tratadas com fungicidas sistêmicos.

Na Holanda, Schepers (1984a) verificou que isolados de *S. fuliginea* de pepino cultivado em estufas apresentaram diminuição na sensibilidade para benzimidazóis (benomyl e carbendazim). O autor desaconselhou a re-introdução dos fungicidas e a seguir, após coletar vários isolados, verificou que a resistência aos fungicidas foi persistente por mais de 10 anos.

Nos Estados Unidos da América, McGrath (1996) e McGrath et al. (1996) detectaram a ineficiência de benomyl em populações de oídio de cucurbitáceas em campos experimental e de produção em vários locais do país.

Atualmente, a extensão do problema de resistência com benzimidazóis atinge a maioria dos fitopatógenos e o problema se agrava porque a resistência, uma vez estabelecida, em geral, é persistente (Brent, 1995). Conforme Oliveira (2002)<sup>2</sup>, benomyl foi retirado do mercado mundial e desde abril de 2002 não é mais comercializado no Brasil.

Outro fungicida que sofreu rápida ocorrência da resistência foi uma hidroxipirimidina, dimethirimol. Esse composto foi introduzido na Holanda em 1968 e usado em larga escala para controlar oídio em pepino em estufas. No ano seguinte e posterior, os resultados obtidos foram menos satisfatórios em algumas estufas, mas não a campo. Os experimentos com oídio, em locais de controle ineficiente e em locais onde o dimethirimol nunca tinha sido usado, revelaram que estirpes resistentes ao fungicida tinham se desenvolvido. Como consequência, o uso de dimethirimol para o controle de oídio do pepino teve de ser abandonado (Dekker, 1977). A diminuição na sensibilidade de oídio a dimethirimol também foi verificada por Schepers (1984a). Segundo o autor, a resistência foi persistente e a re-introdução do fungicida na prática foi desaconselhável. Essas observações foram reafirmadas por Schepers (1984b) trabalhando com pepino cultivado em estufa, quando a resistência do fungo ao produto confirmou ser persistente, mesmo quando retirado por mais de 10 anos.

O composto organofosforado, pyrazophos, apesar do complexo modo de ação e com o desenvolvimento de resistência pouco provável foi testado para verificar o controle

insatisfatório de oídio em algumas estufas de pepino na Holanda em 1979. Os testes em laboratório revelaram uma sensibilidade reduzida do patógeno ao fungicida. A adaptabilidade e a habilidade de competição de estirpes resistentes a pyrazophos na ausência do fungicida pareceu ser um tanto menor do que das estirpes sensíveis (Dekker & Gielink, 1979). Os autores sugeriram que isto poderia ser devido à instabilidade da resistência, ou a uma adaptabilidade reduzida do isolado resistente, como foi inicialmente encontrado para isolados de *C. cucumerinum* resistentes a piramicina. Através desses trabalhos pareceu que na ausência do fungicida, o isolado resistente a pyrazophos foi menos adaptado que o patógeno original sensível. Os autores alertaram que, embora uma adaptabilidade reduzida dificulte o desenvolvimento dos isolados resistentes, uma população patogênica com resistência moderada a pyrazophos aparentemente poderia surgir em estufas onde o produto vinha sendo usado. Essa conclusão foi feita também por Dekker (1982). Schepers (1984a) e Schepers (1984b) verificaram diminuição na sensibilidade de oídio em pepino cultivado em estufa na Holanda ao fungicida e a resistência permaneceu estável por dois anos.

O risco de ocorrência de resistência para fungicidas do grupo dos DMIs não é tão alto quanto o dos fungicidas benzimidazóis. Os principais problemas com resistência têm sido em oídios, entre os quais de cucurbitáceas.

No trabalho conduzido por Schepers (1983) avaliações com os DMIs bitertanol, fenarimol, imazalil e triforine foram realizadas com relação à sensibilidade de isolados de *S. fuliginea* da Holanda e de Israel. Os resultados evidenciaram que o uso desses fungicidas resultou em seleção de isolados do patógeno com decréscimo de sensibilidade. O autor concluiu que essa constatação poderia conduzir a uma perda completa ou parcial na habilidade destes fungicidas em

---

<sup>2</sup> Oliveira, S.H.F. (Instituto Biológico) Comunicação Pessoal, 2002.

controlar esse patógeno. Em trabalho seguinte, Schepers (1984a) relatou que falha no controle da doença, com fenarimol e imazalil, ainda não tinha ocorrido, apesar da observação de decréscimo na sensibilidade, mas o risco existia e o aumento gradual na resistência a estes fungicidas poderia causar problemas no futuro. Assim, com a redução na sensibilidade a DMIs aumentando ao longo dos anos na Holanda, os produtores começaram a encurtar os intervalos de pulverizações (Schepers, 1984a). O DMI triforine, já havia perdido parte de sua eficácia, conforme verificado por Schepers (1983) e Schepers (1984c) e estratégias para diminuir a pressão de seleção de DMIs começaram a ser seriamente consideradas. Pois, existiam evidências de que quando a resistência tornava-se estabelecida na população, o seu desaparecimento era lento após a pressão de seleção ser removida (Schepers, 1984a; Schepers, 1984b).

Isso parece se confirmar pela observação que a adaptabilidade de isolados de oídio do pepino resistentes a DMIs não é seriamente reduzida quando comparada a isolados sensíveis. Além disso, o ambiente fechado de uma estufa pode prevenir o influxo de estirpes sensíveis aumentando, assim, a persistência da resistência (Schepers, 1984b).

Em outro estudo, Schepers (1984c) avaliou isolados que apresentavam uma sensibilidade reduzida a fenarimol, e sugeriu que tal fato poderia ser devido ao uso de triforine e imazalil. Após a introdução do fenarimol em 1981, o uso de DMIs aumentou rapidamente e isso pôde explicar o aumento no número de isolados com uma menor sensibilidade a fenarimol e imazalil em 1982 e 1983. Nesses anos, uma mudança para encurtar os intervalos de pulverizações foi suficiente para alcançar controle adequado com fenarimol e imazalil. Porém triforine em geral foi ineficiente.

Ainda testando fenarimol e imazalil, Schepers (1985a) encontrou diferenças na sensibilidade aos produtos entre diferentes anos, dentro do mesmo ano e entre locais onde a frequência de aplicação foi diferente. O autor relata que mudanças na sensibilidade a DMIs não resultaram em falha total do controle. Na maioria dos casos, um menor intervalo de pulverização foi suficiente para compensar o decréscimo na sensibilidade e alcançar controle adequado por fenarimol e imazalil.

Na publicação de Huggenberger et al. (1984), foi observado um decréscimo na sensibilidade de *S. fuliginea* a DMIs, em áreas onde os fungicidas vinham sendo usados frequentemente. As falhas no controle da doença foram associadas à alta pressão de inóculo, baixa cobertura pelo fungicida e inóculo com sensibilidade reduzida aos produtos. Essas condições foram as mais frequentes encontradas em cultivos de campo de cucurbitáceas em Israel e na Espanha. Os autores constataram que isolados menos sensíveis a fenarimol e nuarimol foram também menos sensíveis a outros DMIs. Os compostos com um modo de ação diferente foram efetivos contra isolados menos sensíveis a fenarimol. Aplicações de mistura de tanque de fenarimol ou nuarimol com compostos com diferente modo de ação tiveram um bom desempenho, superando as aplicações de compostos individuais.

Esses resultados enfatizam a necessidade de estratégias para prevenir ou retardar a resistência a DMIs. Apesar do risco de desenvolvimento de resistência a DMIs ser considerado médio, fatores como o sistema de cultivo, as condições ambientais e características do fungo são importantes influenciadores do desenvolvimento da resistência. Por exemplo, conforme Wade (1982), Hollomon (1993) e Schepers (1984b), o ambiente fechado da estufa e o controle químico intensivo de *S. fuliginea* favorecem a seleção de isolados resistentes a fungicidas. Uma

grande variabilidade genética dentro da população patogênica pode interferir na adaptabilidade, tornando necessário estudar a adaptabilidade dos indivíduos selecionados e verificar a consequência na ocorrência da resistência.

Avaliando se a redução da sensibilidade a ditalimfós, um organofosforado, em *S. fuliginea* em cucurbitáceas, foi devida ao decréscimo na sensibilidade do fungo a esse fungicida que vinha sendo usado em escala muito limitada na Grécia, Malathrakis (1985) não conseguiu chegar a uma conclusão sobre o aparecimento de uma população resistente ao fungicida. O autor sugeriu que a amplitude de variação em relação à sensibilidade a ditalimfós em populações naturais foi muito ampla e estas estirpes com uma sensibilidade reduzida já estivessem presentes e subseqüentemente selecionadas pelo produto ou que a seleção para resistência a ditalimfós se processava rapidamente. Além disso, a persistência de *S. fuliginea* no mesmo nível de resistência por mais de nove meses nas parcelas em uma área onde a interferência de uma população sensível deveria ser esperada, provavelmente indicou que estirpes resistentes não são menos competitivas do que as sensíveis (Malathrakis, 1985).

Esse comportamento entre população sensível e resistente foi avaliado por Schepers (1985b). A adaptabilidade de isolados de *S. fuliginea* resistentes a DMIs (bitertanol, fenarimol e imazalil) foi comparada a isolados selvagens. Os fatores de adaptabilidade estudados foram germinação de conídios, crescimento do tubo germinativo e do micélio, penetração, esporulação e habilidade competitiva. Dos dez isolados resistentes comparados com os sete isolados selvagens, uma ou mais variáveis de adaptabilidade dos isolados resistentes ficaram um pouco abaixo dos valores dos isolados selvagens. Porém, dentro do grupo dos isolados resistentes não houve relação entre o grau de resistência a DMI e o grau de adaptabilidade. Em outro experimento,

diferenças na adaptabilidade entre isolados resistentes e selvagens não foram detectadas dentro de um período de três meses. Em experimento de competição, os isolados resistentes mostraram-se tão competitivos quanto o selvagem. A hipótese de que a resistência a DMIs é improvável de desenvolver sob condições práticas devido ao decréscimo na adaptabilidade das estirpes resistentes não parece servir para *S. fuliginea*, segundo Schepers (1985b).

Entre as pesquisas de resistência, o monitoramento é crucial visto que todo o conhecimento da distribuição e impacto da resistência no campo depende dele. No monitoramento são testadas amostras de populações de patógenos alvo retiradas de determinados locais para determinar o grau de sensibilidade a um ou mais fungicidas (Brent, 1995). Na Austrália, a pesquisa que O'Brien (1994) conduziu foi com o objetivo de verificar a situação da resistência a DMIs e outros fungicidas em populações de *S. fuliginea* de diferentes espécies de cucurbitáceas em várias regiões. A resistência a benzimidazóis foi encontrada em maior frequência (44 %), seguida pelos DMIs (39 %), organofosforados (21 %) e hidroxipirimidinas (13 %). Muitas linhagens foram resistentes a mais de um grupo de fungicidas. Isolados mais resistentes foram mais frequentes em regiões de cultivo de melão e ocorreram diferenças, também, no espectro da resistência conforme o manejo de cultivo adotado em cada região.

Um trabalho de monitoramento da sensibilidade a fungicida de *S. fuliginea* durante epidemias de oídio a campo em abóbora foi realizado por McGrath (1996) nos Estados Unidos. Foram detectados isolados resistentes a benomyl em todas as populações antes do uso do produto. Um único isolado resistente a triadimefon detectado antes do tratamento estava próximo a plantas tratadas com o produto. A proporção de isolados resistentes mudou de 0 para 81 % para triadimefon e de 30 para 69 % para benomyl, em parcelas tratadas quatro vezes com triadimefon

mais clorotalonil dentro de, aproximadamente, um mês no primeiro ano. No segundo ano, a proporção mudou de 3 para 100 % para triadimefon e de 10 para 44 % para benomyl dentro do mesmo período. O autor constatou que a mudança ocorreu rapidamente, a proporção de isolados resistentes mudou dentro de duas semanas de 0 para 96 % para triadimefon e de 10 para 74 % para benomyl após duas aplicações de triadimefon em um campo comercial. Dos 122 isolados coletados de abóbora tratada com fungicida, 95 foram resistentes a benomyl e triadimefon.

Num estudo seguinte, isolados resistentes a triadimefon e isolados resistentes a benomyl foram encontrados em campos comerciais de produção de cucurbitáceas e parcelas de área experimental que não tinham sido tratados com esses fungicidas em vários locais dos Estados Unidos. Os isolados resistentes a triadimefon foram menos sensíveis a outros dois fungicidas triazóis não registrados para uso em cucurbitáceas nos Estados Unidos (myclobutanil e propiconazole) quando o estudo foi realizado (McGrath et al., 1996).

A resistência pode ser detectada e avaliada de diversas maneiras, onde em geral, o reconhecimento de linhagens resistentes de fungos é feito por meio da comparação com os dados de linhagens sensíveis. Na literatura, os métodos de monitoramento descritos variam conforme o patógeno, o hospedeiro e o fungicida.

Na tentativa de padronizar a metodologia, alguns testes são apresentados (Dekker & Georgopoulos, 1982; FAO, 1982.; FRAC, 1991; Hollomon & Butters, 1992). No caso de oídio de cucurbitáceas não existe um método padrão a ser seguido para testes de resistência. Dekker (1982) apresentou alguns métodos para checar o desenvolvimento, medir o nível e detectar aumento de resistência na população do patógeno em fase inicial. São elas: aplicação do fungicida na parte aérea, aplicação via raiz e utilização de disco foliar. Métodos recomendados para fungicidas



DMIs são encontrados em publicação elaborada pelo FRAC (FRAC, 1991), onde os métodos são apresentados para *B. graminis*, *R. secalis*, *D. teres*, *Leptosphaeria nodorum*, *P. herpotrichoides*, *P. recondita*, *U. necator*, *C. beticola*, *V. inaequalis*, *Cercosporidium personatum*, *P. digitatum*, *P. italicum* e *M. fijiensis*.

O que se verifica na literatura é que os testes utilizados em trabalhos publicados com *S. fuliginea* apresentam variações conforme os autores. Nas primeiras publicações tem-se o registro de tratamento com o produto por aplicação via solo (Schroeder & Provvidenti, 1968; Schepers, 1984a; Buchenauer et al., 1984); via imersão de raízes em soluções de fungicida (Petsikos-Panayotarou, 1977) e folhas destacadas (Schroeder & Provvidenti, 1969). Os mais usados, entretanto, são pulverização foliar (Schepers, 1983; Buchenauer et al., 1984; Huggenberger et al., 1984; McGrath, 1991; Del Pino et al., 1999) e disco foliar (Dekker & Gielink, 1979; Schepers, 1984a; Malathrakis, 1985; O'Brien, 1994; McGrath, 1996; Del Pino et al., 1999).

O método do disco foliar consiste na retirada dos discos de cotilédones de plântulas de pepino pulverizadas com fungicida e colocados em ágar-água para depois serem inoculados (McGrath, 1996; McGrath et al, 1996) ou discos foliares preparados da mesma maneira (O'Brien, 1994) ou retirados da folha e imersos nas concentrações do fungicida e, após secagem e inoculação, colocados flutuando em água (Malathrakis, 1985), ou discos foliares ou cotiledonares retirados de plantas não tratadas e colocados flutuando em solução aquosa de fungicida para serem inoculados (Dekker & Gielink, 1979; Schepers, 1984a; Schepers, 1984b; Schepers, 1984c; Schepers, 1985a).

Na Espanha, trabalho conduzido por Del Pino et al. (1999) com 28 isolados de *S. fuliginea*, foi investigada a sensibilidade a vários fungicidas utilizando métodos *in vivo*

e *in vitro*. A resistência detectada para os fungicidas variou de acordo com o método utilizado.

Porém, os autores não indicaram qual foi o melhor método.

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

Os trabalhos foram realizados nas instalações do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia e casas de vegetação, da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna, SP.

### **5.1 Obtenção, manutenção e multiplicação de isolados de *Sphaerotheca fuliginea* coletados em diferentes locais**

#### **5.1.1 Obtenção de isolados de *Sphaerotheca fuliginea***

As amostras de oídio de cucurbitáceas foram coletadas na Bahia, no Distrito Federal, em Minas Gerais, no Rio Grande do Sul e em São Paulo (Quadro 1). Foram coletados 56 isolados de 13 locais diferentes, incluindo amostras com e sem histórico de aplicação de fungicida.

Quadro 1. Isolados de *Sphaerotheca fuliginea* coletados de cucurbitáceas de diferentes locais do Brasil.

Local de coleta	Código	Data de coleta	Fungicidas aplicados na cultura	Cultura**	Cultivares	Nº de isolados	Cultivo
1. Itapira (SP)	IP	01/00	tiofanato metílico	A	Menina Brasileira	05	Campo
2. Santo Antônio de Posse (SP)	SAP	02/00	cyproconazole, tebuconazole, pyrazolós, benomyl, fenarimol, tiofanato metílico	P	Hokushin	05	Protegido
3. Jaguariúna 1 (SP)*	JG1	02/00	nenhum	A	Menina Brasileira	01	Protegido
4. Jaguariúna 2 (SP)	JG2	02/00	nenhum	A	Menina Brasileira	01	Campo
5. Teutônia (RS)	TT	04/00	benomyl, carbendazim	P	Marinda	02	Protegido
6. Coimbra (MG)	CB	05/00	cymoxanil	A	Menina Brasileira	02	Campo
7. Monte Mor (SP)	MM	05/00	?	A	Menina Brasileira	02	Protegido
8. Elias Fausto (SP)	EF	05/00	chlorothalonil+oxicloreto de cobre, difenoconazole, enxofre, mancozeb, metalaxyl, pyrazolós, terramicina+estreptomina, triadimenol	P	Holandês - Haten	10	Protegido
9. Campinas 1 (SP)	CP1	05/00	azoxystrobin, difenoconazole	P	Yoshinari	11	Protegido
10. Campinas 2 (SP)	CP2	05/00	benomyl, captan	P	Yoshinari	08	Protegido
11. Brasília (DF)	BL	06/00	pyrazolós, triadimenol	A	Menina Brasileira	02	Campo
12. Bahia	BA	06/00	fenarimol	A	Menina Brasileira	01	Campo
13. Rio das Pedras (SP)	RDP	07/00	nenhum	P	Yoshinari	06	Protegido

\*Isolado padrão de sensibilidade a fungicidas.

? = sem informação sobre produtos aplicados.

1 e 2 = local diferente de coleta.

\*\*A = abóbora; P = pepino.

Os isolados de *S. fuliginea* foram obtidos a partir de folhas de abóbora (*Cucurbita pepo*L.) e de pepino (*Cucumis sativus* L.) com sintomas da doença. Cada amostra foi constituída por uma a duas folhas jovens, com colônias em início de infecção, coletadas dentro de uma área de 1-2 m<sup>2</sup> em estufa e a campo. A seguir, as folhas foram colocadas em sacos plásticos inflados para o transporte (Schepers, 1984a; Huggenberger et al., 1984). Para cada local, obteve-se informação à respeito dos fungicidas utilizados, cultura, data de coleta, local de coleta, tipo de cultivo e número de isolados coletados (Quadro 1).

### **5.1.2 Preservação e multiplicação dos isolados de *Sphaerotheca fuliginea***

Imediatamente após a coleta, quando possível, as folhas foram selecionadas de acordo com seu estado de preservação e presença de colônias discretas esporulando, visualizadas sob microscópio estereoscópico. Cada folha foi, então, colocada em câmara úmida constituída por placa de Petri de plástico (15 cm de diâmetro) com dois discos de papel de filtro esterilizados e umedecidos com água destilada. Para fornecer inóculo suficiente visando a preservação e multiplicação dos isolados, as folhas foram mantidas, por 24 h, em sala de crescimento com temperatura de 22±2°C e fotoperíodo de 12 h, fornecido por duas lâmpadas fluorescentes, luz do dia (Sylvania - GTE GRO-LUX F20T12/GRO), a uma altura de, aproximadamente, 30 cm.

A preservação e multiplicação de inóculo foram realizadas pelo método de discos de folhas cotiledonares destacados e mantidos em meio de ágar-água (0,5 %), conforme a método descrito por McGrath (1996), com algumas modificações.

Para a obtenção dos discos, sementes de pepino (híbrido Safira) foram semeadas em vasos plásticos (0,5 L) contendo uma mistura de solo com 20 % de esterco bovino, tratada no coletor solar por um ou dois dias (Ghini, 1998). As plântulas foram mantidas em casa de vegetação livre de contaminação com oídio e sem aplicação de fungicidas. Aos oito dias de idade foram retirados discos defolhas cotiledonares (1,2 cm de diâmetro) com auxílio de um furador de rolha. Em laboratório, os discos foram colocados em ágar-água (0,5 %) em placas de Petri de vidro esterilizadas (9 cm de diâmetro) e no mesmo dia da coleta foi realizada a inoculação dos discos.

Para a preservação dos isolados coletados, conídios foram retirados das colônias selecionadas das folhas mantidas em câmara úmida e inoculados nos discos cotiledonares. A transferência foi feita com o uso de um cílio fixado com cola na extremidade de uma pipeta de pasteur (McGrath, 1996; McGrath et al., 1996), desinfestado com etanol 70 %. O inóculo foi depositado no centro da face adaxial do disco. Para cada isolado foram preparadas duas placas com oito discos cada. As placas foram mantidas em sala de crescimento conforme as condições descritas anteriormente. A cada 12 dias foram feitas novas transferências para a manutenção dos isolados.

Para a multiplicação, placas com discos de folhas cotiledonares em ágar-água foram preparadas, para fornecer inóculo suficiente para os testes a serem executados *in vitro*. Para cada novo teste, o inóculo foi preparado a partir do material preservado. Os discos foram preparados de acordo com a esporulação de cada inóculo e a quantidade necessária para cada teste, prevendo a possibilidade de, aproximadamente, 25 % de falha de crescimento. Para as transferências dos inóculos, conídios foram retirados da extremidade das colônias com,

aproximadamente, 10 dias de idade em melhor estado de purificação e esporulação. Em geral, para a inoculação de 100 discos foram preparadas duas placas de multiplicação.

## **5.2 Identificação dos isolados de *Sphaerotheca fuliginea***

Para identificar a espécie de oídio por meio da presença dos corpos de fibrosina e produção de tubos germinativos bifurcados, foi utilizada o método descrito por Khan & Sharma (1995).

Os conídios foram transferidos, com o uso de um cílio, para discos de folhas cotiledonares de pepino (1,2 cm de diâmetro) colocados em ágar-água (0,5 %) em placas de Petri de vidro (9 cm de diâmetro). Após sete dias em sala de crescimento (condições descritas no item 5.1.2), os conídios foram transferidos com o uso de um pincel para lâminas de vidro limpas, secas e esterilizadas. Foram preparadas três lâminas por isolado onde, duas gotas da solução aquosa de KOH (3 %) foram adicionadas aos conídios para visualizar os corpos de fibrosina sob microscópio óptico (40 x e 100 x). Foram examinados 100 conídios em cada lâmina, escolhidos ao acaso em diferentes campos do microscópio, totalizando 300 conídios/isolado.

Para observar a morfologia do tubo germinativo, os conídios foram transferidos de colônias com sete dias de idade, com o uso de um pincel, para lâminas de vidro colocadas sobre triângulos de vidro, e mantidas em placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo, na base, uma fina camada de água destilada e esterilizada e um pedaço de algodão, levemente umedecido em água contornando a superfície interior da tampa da placa. As placas foram mantidas em sala de crescimento (conforme item 5.1.2), após 24 h, os conídios foram examinados ao

microscópio óptico (40 x e 100 x). O mesmo número de lâminas e conídios foi preparado e avaliado, totalizando 300 conídios/isolado.

### 5.3 Comparação de métodos para verificar a sensibilidade a fungicidas

Para testar a sensibilidade de *S. fuliginea* a fungicidas foram comparadas algumas variações do método do disco foliar.

Discos, de 1,1 cm de diâmetro, foram retirados de folhas cotiledonares de plântulas sadias de pepino (híbrido Safira) com oito dias de idade, cultivadas conforme os procedimentos descritos no item 5.1.2, com um furador de rolha, colocados em placas de Petri de vidro (6 cm de diâmetro) e tratados com o fungicida tiofanato metílico (fórmula comercial) nas concentrações de 0; 6,25; 12,5; 25; 50 e 350  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Os discos foram preparados da seguinte forma: 1. flutuando em solução aquosa do fungicida, aproximadamente, 10 ml por placa (Dekker, 1982); 2. retirados de cotilédones de plantas de pepino (híbrido Safira) pulverizadas com as concentrações do fungicida e, após secagem (24 h), retirados com furador de rolha e colocados nas placas contendo ágar-água (0,5 %) (McGrath, 1996); 3. imersos em solução aquosa do fungicida (30 min) e, após secagem (Malathrakis, 1985), colocados nas placas contendo ágar-água (0,5 %).

A inoculação dos discos foi feita 24 h após os tratamentos pela técnica da transferência de conídios com uso do cílio, nas condições de crescimento descritos no item 5.1.2. O material foi mantido por 12 dias em sala de crescimento, quando a infecção foi avaliada utilizando-se um microscópio estereoscópico no aumento 1,6 vezes, para detectar a área foliar colonizada pelo patógeno. Os isolados utilizados no teste foram JG1 (sensível), SAP e TT (resistentes) (Quadro 1).



O experimento foi conduzido através de delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições (discos), de acordo com o esquema fatorial 6 x 3 [concentrações (6) x metodologias (3)]. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan (5 % de probabilidade).

#### **5.4 Sensibilidade de isolados de *Sphaerotheca fuliginea* coletados de diferentes locais a DMIs, benzimidazóis e estrobilurina pelo teste do disco foliar**

O método de disco foliar flutuando em solução aquosa do fungicida formulado foi adotado para verificar a sensibilidade dos isolados, seguindo a metodologia de Dekker (1982).

Discos (1,1 cm de diâmetro) foram retirados de cotilédones de plântulas sadias de pepino (Híbrido Safira) com oito dias de idade, com um furador de rolha e colocados, com o auxílio de uma pinça, flutuando nas soluções aquosas dos fungicidas (aproximadamente, 10 mL/placa) em placas de Petri de vidro (6 cm de diâmetro) com a face adaxial voltada para cima, assim que foram retirados dos cotilédones.

Para a montagem do ensaio, os isolados foram multiplicados seguindo a descrição no item 5.1.2 para serem testados com os seguintes fungicidas DMIs: fenarimol (pirimidina) e tebuconazole (triazol) nas concentrações de 0; 0,001; 0,01; 0,1 e 1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ; os benzimidazóis: benomyl e tiofanato metílico nas concentrações de 0; 6,3; 12,5; 25 e 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e do grupo das estrobilurinas (azoxystrobin) nas concentrações de 0; 0,001; 0,003; 0,005; 0,01; 0,03; 0,05; 0,1; 0,3; 0,5 e 1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Para cada concentração foram utilizados quatro discos. A

transferência dos conídios para os discos foi feita com o uso de um cílio, após 24 h do tratamento dos discos com os fungicidas. O material foi, então, incubado conforme as condições descritas no item 5.1.2. Após 12 dias de incubação, determinou-se, em microscópio estereoscópico, a área foliar colonizada pelo patógeno nos discos cotiledonares e com a média das repetições determinou-se a CMI dos isolados para cada fungicida. O ensaio foi repetido duas vezes.

### **5.5 Teste de sensibilidade de isolados de *Sphaerotheca fuliginea* a fungicidas pulverizados em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação**

Nesse teste, a sensibilidade de *S. fuliginea* foi avaliada em dois ensaios, cada um repetido duas vezes, para avaliar mudanças na sensibilidade quando submetido à pressão de seleção fornecida pela aplicação de fungicidas do grupo dos benzimidazóis e DMIs e comparar a eficiência dos fungicidas com resultados de teste *in vitro*.

Para avaliar o comportamento de *S. fuliginea* submetido à aplicação de fungicida, sementes de pepino (híbrido Safira) foram semeadas em vasos (oito litros) mantidos em casa de vegetação contendo uma mistura de terra com 20 % de esterco bovino (tratada no coletor solar) e adubação com 15 g da fórmula NPK (4-14-8) e 2 g de calcário. Para cada tratamento com fungicida foram preparados quatro vasos, com duas plantas cada um. A inoculação do patógeno foi proporcionada pela alta pressão de inóculo de oídio, fornecida por folhas de plantas de abóbora, cultivar Menina Brasileira, severamente atacadas com a doença, mantidas em vasos sem aplicação de fungicida.

### **5.5.1 Primeiro ensaio: avaliação da sensibilidade de *Sphaerotheca fuliginea* a fungicidas aplicados na dose recomendada em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação**

Os tratamentos em casa de vegetação foram feitos com aplicação de água na testemunha e aplicação das doses recomendadas dos fungicidas: benomyl ( $70\text{g}\cdot 100\text{L}^{-1}$ ), tebuconazole ( $75\text{ml}\cdot 100\text{L}^{-1}$ ) e fenarimol ( $20\text{ml}\cdot 100\text{L}^{-1}$ ) (Agrofit, 2002). No primeiro cultivo do primeiro ensaio, a primeira aplicação dos produtos foi feita aos 27 dias após o plantio e na segunda, aos 30 dias. As aplicações subsequentes foram feitas com intervalo de 15 dias entre uma e outra, totalizando quatro aplicações. As suspensões dos fungicidas foram pulverizadas até o início do escorrimento com o auxílio de um compressor de 2 Kg força.

As coletas dos isolados das plantas tratadas foi realizada para verificar a sensibilidade aos fungicidas *in vitro*, com o método de disco foliar (item 5.1.2). Elas foram feitas 24 h antes das aplicações dos fungicidas até a quarta aplicação e 15 dias após a quarta aplicação dos fungicidas (75 dias após a primeira aplicação), totalizando cinco coletas. Três isolados, cada um obtido de três folhas jovens de pepino escolhidas aleatoriamente de cada tratamento, foram utilizados no teste *in vitro*. Para verificar a sensibilidade desses isolados, os seguintes fungicidas DMIs foram utilizados: fenarimol e tebuconazole, nas concentrações de 0; 0,001; 0,01; 0,1 e  $1\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  e benomyl e tiofanato metílico, nas concentrações de 0; 6,3; 12,5; 25 e  $50\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . A infecção foi avaliada após 12 dias, utilizando-se um microscópio estereoscópico no aumento 1,6 vezes, para detectar a área foliar colonizada pelo patógeno.

### **5.5.2 Segundo ensaio: avaliação da sensibilidade de *Sphaerotheca fuliginea* a diferentes concentrações de fungicidas em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação**

Nesse ensaio, foram realizadas duas repetições onde plantas de pepino foram pulverizadas com os mesmos tratamentos do primeiro ensaio mais meia dose e o dobro da dose de cada fungicida: benomyl (35g.100L<sup>-1</sup>; 70g.100L<sup>-1</sup>; 140g.100L<sup>-1</sup>), fenarimol (10mL.100L<sup>-1</sup>; 20mL.100L<sup>-1</sup>; 40mL.100L<sup>-1</sup>) e tebuconazole (37,5mL.100L<sup>-1</sup>; 75mL.100L<sup>-1</sup>; 150mL.100L<sup>-1</sup>).

As suspensões dos fungicidas foram aplicadas até o início do escorrimento com o auxílio de um compressor de 2 Kg força. Foram realizadas duas pulverizações, no primeiro cultivo aos 25 e 35 dias após o plantio e no segundo cultivo aos 16 e 30 dias após a semeadura.

Para a obtenção e multiplicação dos isolados procedeu-se conforme descrito no item 5.1.2, retirando-se as folhas com sintomas visíveis ou não da doença, no momento das avaliações. Para o teste de sensibilidade *in vitro* seguiu-se o mesmo procedimento descrito no item 5.5.1.

Foram realizadas duas avaliações da doença através da severidade, utilizando a escala diagramática apresentada por Azevedo & Leite (1996) (Figura 1), sete dias após cada aplicação em todas as folhas de cada planta. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados de severidade foram submetidos a análise de variância e regressão quadrática.

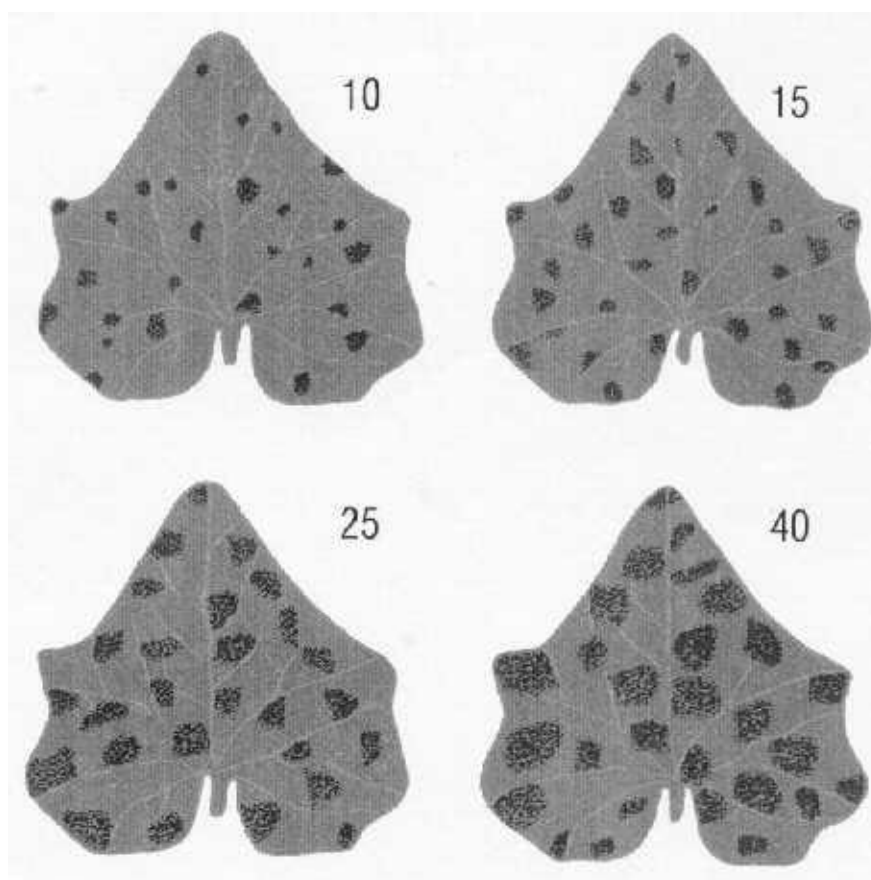


Figura 1. Escala diagramática para a determinação da severidade do oídio em cucurbitáceas, expressa em porcentagem da área foliar atacada.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Identificação dos isolados de *Sphaerotheca fuliginea*

Os conídios dos 56 isolados, recuperados de pepino e abóbora, apresentaram germinação lateral com tubo germinativo simples ou bifurcado e corpos de fibrosina, característicos de *S. fuliginea* (Quadro 2).

Após 24 h, a germinação variou de 13 % a 47 %, a formação de tubos germinativos bifurcados de 2,38 % a 9,51 % e a presença de conídios com corpos de fibrosina de 73 % a 89,67 %. Foi verificado que nem todos os conídios, de cada isolado, apresentaram os corpos de fibrosina, mas essa observação foi comentada por Khan & Sharma (1995) como sendo normal, desde que uma alta porcentagem de conídios os apresente. Os valores obtidos para essa característica foram próximos aos valores apresentados no trabalho executado pelos autores. No entanto, comparando a porcentagem de tubo germinativo bifurcado e germinação com os valores

apresentados nesse trabalho, os resultados encontrados foram inferiores. A porcentagem de tubos germinativos bifurcados apresentada por Khan & Sharma (1995) foi de

Quadro 2. Porcentagem de germinação e presença de tubo germinativo bifurcado e corpos de fibrosina em conídios de isolados de *Sphaerotheca fuliginea*.

Código dos isolados*	Cultura	Germinação conidial (%)**	Tubo germinativo bifurcado (%)**	Corpos de fibrosina (%)**
JG1	Abóbora	26,00 ± 6,08***	9,2 ± 2,18***	77,7 ± 8,08***
IP	Abóbora	34,7 ± 7,51	2,6 ± 2,40	81,7 ± 15,27
SAP	Pepino	42,3 ± 2,52	8,7 ± 5,04	87,3 ± 8,02
JG2	Abóbora	38,0 ± 7,55	3,1 ± 3,36	76,3 ± 6,66
TT	Pepino	25,3 ± 4,51	4,9 ± 5,00	88,3 ± 3,51
CB	Abóbora	25,3 ± 7,57	8,3 ± 14,43	74,3 ± 3,79
MM	Abóbora	40,3 ± 2,08	4,2 ± 1,56	73,0 ± 4,36
EF	Pepino	41,7 ± 2,89	3,2 ± 1,53	79,3 ± 3,79
CP1	Pepino	42,3 ± 3,51	3,2 ± 1,39	85,0 ± 7,55
CP2	Pepino	43,3 ± 1,53	3,9 ± 1,43	85,7 ± 12,34
BL	Abóbora	26,0 ± 5,57	9,5 ± 4,23	87,3 ± 13,28
BA	Abóbora	13,0 ± 2,65	2,4 ± 4,12	73,0 ± 4,36
RDP	Pepino	47,0 ± 8,00	3,5 ± 0,86	89,7 ± 5,51

\*Quadro 1.

\*\*Os valores correspondem à média de 300 conídios analisados em 3 repetições (100 conídios/repetição).

\*\*\*Desvio padrão.

30 % a 70 %. Mas, o intervalo de variação na porcentagem de tubos germinativos bifurcados produzidos pelos conídios de *S. fuliginea* pode ser de 5 a 60 %, segundo Ballantyne, citado por Khan & Sharma (1995), sendo o comum entre 3 a 5 %. Nesse caso, os resultados obtidos estão de acordo com os relatados para a espécie. Quanto à porcentagem de germinação, Khan & Sharma (1995) apresentam valores acima de 60 %, enquanto que nesse trabalho não foi alcançado valor de 50 % de germinação. Segundo Stadnik et al. (2001), para a germinação dos conídios de *S. fuliginosa* é preciso mantê-los em câmara escura. Como esse critério não foi levado em consideração, talvez tenha influenciado na germinação e na formação de tubos germinativos bifurcados. Nos trabalhos conduzidos por Khan & Sharma (1995) e Cohen et al. (2000) para verificar a germinação dos conídios de *S. fuliginea* não é mencionado o regime de luz.

As características anamórficas utilizadas para identificar o patógeno como: presença ou ausência de corpos de fibrosina e forma do tubo germinativo estão entre os critérios aceitáveis para



diferenciar *S. fuliginea* de *Erysiphe cichoracearum*, espécie mais comumente associada e confundida com a primeira (Khan & Sharma, 1995). O patógeno *E. cichoracearum* não apresenta essas características, além de outras diferenças. Segundo Sitterly (1978), *S. fuliginea* é o agente causal de oídio de cucurbitáceas predominante, quando não a única espécie em muitos países. Na América Latina, onde a forma perfeita é rara ou mesmo não ocorre, existe uma menor tendência para distinguir o agente causal entre as duas espécies, embora em trabalhos mais recentes tenha sido encontrado *S. fuliginea* em cucurbitáceas (Stadnik et al., 2001). No Brasil, esse patógeno foi identificado em melão (Reifschneider et al., 1985) e em melancia, nas condições do Vale do São Francisco (Dias et al., 1999).

O agente causal de oídio, das amostras coletadas, revelou características morfológicas relacionadas a *Sphaerotheca fuliginea*. Com esse resultado, o fungo foi encontrado em locais na Bahia, Distrito Federal,, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e São Paulo, não sendo encontrada nenhuma amostra de *E. cichoracearum*.

## **6.2. Comparação de métodos para verificar a sensibilidade a fungicidas**

Nas condições utilizadas para o experimento, não foi possível diferenciar os métodos testados quando utilizado o isolado sensível (JG1) (Figura 2), enquanto que houve diferença estatisticamente significativa entre os métodos quando utilizados os isolados resistentes (SAP e TT), onde o método 1 diferiu dos demais (Figuras 3 e 4).

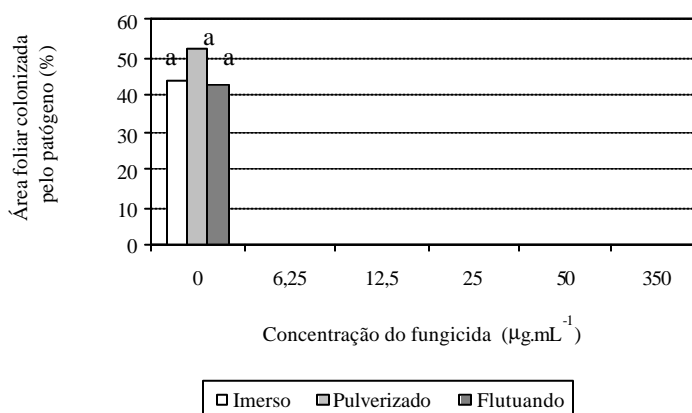


Figura 2. Crescimento do isolado JG1 de *Sphaerotheca fuliginea* em discos cotiledonares tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico em três variações do método do disco foliar: imersos em solução aquosa do fungicida, retirados de plantas de pepino pulverizadas com o fungicida e flutuando em solução aquosa do fungicida. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Duncan 5 %).

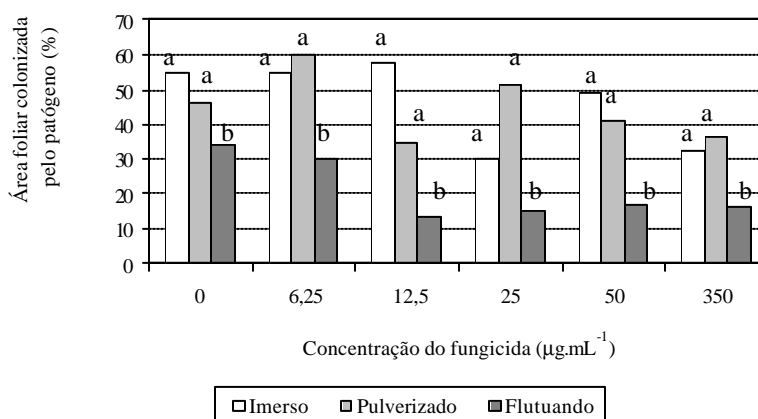


Figura 3. Crescimento do isolado SAP de *Sphaerotheca fuliginea* em discos cotiledonares tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico em três variações do método do disco foliar: imersos em solução aquosa do fungicida, retirados de plantas de pepino pulverizadas com o fungicida e flutuando em solução aquosa do fungicida. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Duncan 5 %).

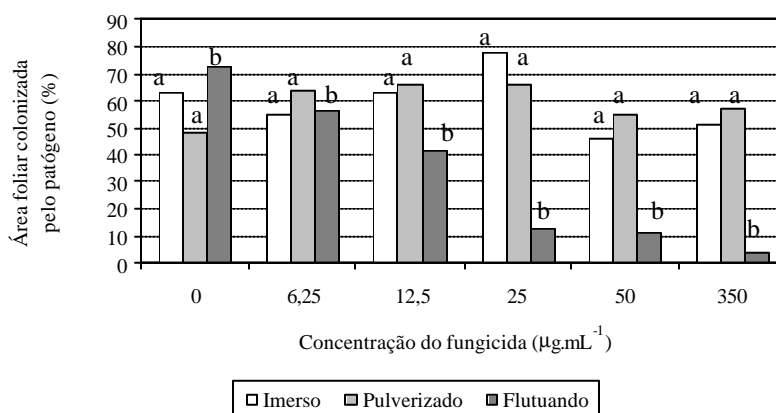


Figura 4. Crescimento do isolado TT de *Sphaerotheca fuliginea* em discos cotiledonares tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico em três variações do método do disco foliar: imersos em solução aquosa do fungicida, retirados de plantas de pepino pulverizadas com o fungicida e flutuando em solução aquosa do fungicida. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (Duncan 5 %).

Embora houve uma diferença do método 1 em relação aos métodos 2 e 3, através desses métodos foi possível demonstrar a sensibilidade dos isolados JG1 (sensível) SAP e TT (resistentes) para o fungicida tiofanato metílico. O isolado JG1 (Figura 1) cresceu apenas na testemunha nos três métodos, enquanto que os isolados recuperados de cultivo comercial, SAP (Figura 2) e TT (Figura 3), desenvolveram-se em todas as concentrações. Na mais alta, 350  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , o isolado SAP apresentou infecção de 16,25 % no método 1; 32,5 % no método 2 e 36,25 % no método 3 (Figura 2). O isolado TT apresentou infecção de 4 % no método 1; 57,5 % no método 2 e 51,25 % no método 3 (Figura 3). Analisando o Quadro 1, verifica-se que constam aplicações com fungicidas benzimidazóis nesses isolados, justificando, de certo modo, o desenvolvimento nas

concentrações testadas. Conforme Georgopoulos (1982) e Spalding (1982) é comum a ocorrência de RCPC entre os fungicidas desse grupo químico.

Foi observado menor porcentagem de infecção no método 1 (Figuras 2 e 3) nos resultados dos isolados SAP e TT. Nesse método o disco cotiledonar flutuou na solução fungicida e, provavelmente, a concentração do ingrediente ativo permaneceu a mesma enquanto os discos estiveram em contato com o produto. Desse modo, pode apresentar uma maior interferência no desenvolvimento do patógeno em relação aos outros métodos por promover uma maior pressão de seleção do fungicida. No método onde o disco foi retirado de cotilédones pulverizados com os fungicidas (2) e onde o disco foi imerso na solução fungicida e depois de seco e inoculado (3), provavelmente, com a respiração normal do material vegetal ocorreu uma degradação da concentração do produto aplicado no disco pois, em ambos os casos, os discos foram colocados em ágar-água e permaneceram verdes durante os 12 dias.

O método 1 não apresentou restrição ao desenvolvimento do patógeno para o fungicida benzimidazol testado até a dose mais alta,  $350 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Porém, quando utilizado para fungicidas DMIs, a utilização de concentrações maiores que  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  para fenarimol e tebuconazole não é recomendado, pois, em testes preliminares, concentrações acima desse valor causaram deterioração do disco foliar, que amarelecem em dois dias, tornando-se inviáveis para o crescimento do patógeno.

As concentrações a serem utilizadas com o método 1, em geral, são menores do que as utilizadas com os outros métodos, no caso de fungicidas DMIs, mas tem-se a concentração mínima inibitória (CMI) real de cada fungicida. O método 2, onde realiza-se a pulverização das plantas para posterior retirada dos cotilédones, assemelha-se ao que acontece na

prática e é utilizado por alguns autores como teste de sensibilidade aos fungicidas (Schepers, 1983; Buchenauer et al., 1984; Huggenberger et al., 1984; McGrath, 1991; Del Pino et al., 1999).

O teste em que é utilizado disco foliar ou cotiledonar é considerado apropriado para avaliação de populações de uma região ou área de estudo, pode detectar mudanças significativas na sensibilidade, permite previsões precisas do potencial de desenvolvimento de resistência, é eficiente na utilização de espaço, mão-de-obra, material e utensílios, é relativamente rápido, requer uma estrutura simples, é apropriado para fungicidas sistêmicos e loco-sistêmicos (Skidmore & Scheinpflug, 1991).

Uma das dificuldades observadas foi a padronização da quantidade de inóculo. No trabalho conduzido por McGrath (1996) e McGrath et al. (1996) é descrito que na inoculação é feita a transferência de três a cinco cadeias conidiais (15 a 25 conídios) de cada isolado para o centro de cada disco foliar. O que não foi possível quantificar nesse experimento. Ainda, Erickson & Wilcox (1997) descrevem a inoculação de *U. necator* com a transferência de uma única cadeia (20 a 30 conídios) removida de colônia sob um microscópio de dissecação com o uso de um pêlo de camelo fixado em uma pipeta de vidro e transferida para um disco foliar em outro microscópio de dissecação.

### **6.3 Sensibilidade de isolados de *Sphaerotheca fuliginea*, coletados de diferentes locais, a DMIs, benzimidazóis e estrobilurina pelo teste do disco foliar**

Os isolados coletados apresentaram variações de sensibilidade aos fungicidas testados. Essa variação está representada pela CMI nos Quadros 3, 4, 5, 6 e 7 para fenarimol, tebuconazole, benomyl, tiofanato metílico e azoxystrobin, respectivamente.

Quadro 3. Concentração mínima inibitória (CMI) a fenarimol de isolados de *Sphaerotheca fuliginea* obtidos de diferentes locais de cultivo.

Código dos isolados*	Concentração mínima inibitória (CMI) ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
JG1**	
IP	
JG2	0,01
TT	
CB	
MM	0,1
BL	
EF	
CP1	0,1 – 1,0
CP2	
BA	1,0
RDP	
SAP	1,0 - > 1,0

\*Quadro 1

\*\*Isolado considerado como padrão de sensibilidade a fungicidas.

Quadro 4. Concentração mínima inibitória (CMI) a tebuconazole de isolados de *Sphaerotheca fuliginea* obtidos de diferentes locais de cultivo.

Código dos isolados*	Concentração mínima inibitória (CMI) ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
JG1**	
IP	
JG2	0,1
TT	
CB	
SAP	
MM	

EF	
CP1	1,0
CP2	
BL	
BA	
RDP	

\*Quadro 1

\*\*Isolado considerado como padrão de sensibilidade a fungicidas.

Quadro 5. Concentração mínima inibitória (CMI) a benomyl de isolados de *Sphaerotheca fuliginea*

obtidos de diferentes locais de cultivo.

Código dos isolados*	Concentração mínima inibitória (CMI) ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
JG1**	6,25
CB	
EF	
CP2	12,5
BL	
RDP	
MM	25,0
BA	
CP1	50,0
IP	
SAP	> 50,0
JG2	
TT	

\*Quadro 1.

\*\*Isolado considerado como padrão de sensibilidade a fungicidas.

Quadro 6. Concentração mínima inibitória (CMI) a tiofanato metílico de isolados de *Sphaerotheca*

*fuliginea* obtidos de diferentes locais de cultivo.

Código dos isolados*	Concentração mínima inibitória (CMI) ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
JG1**	6,25
CB	
CP2	
BL	25,0
RDP	
MM	50,0

IP	
SAP	
JG2	
TT	> 50,0
EF	
CP1	
BA	

\*Quadro 1.

\*\*Isolado considerado como padrão de sensibilidade a fungicidas.

Quadro 7. Concentração mínima inibitória (CMI) a azoxystrobin de isolados de *Sphaerotheca fuliginea* obtidos de diferentes locais de cultivo.

Código dos isolados*	Concentração mínima inibitória (CMI) ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )
JG1**	0,005
SAP	
JG2	0,010
CB	
EF	
IP	
TT	
MM	
CP1	0,030
CP2	
BL	
RDP	
BA	0,300

\*Quadro 1.

\*\*Isolado considerado como padrão de sensibilidade a fungicidas.

A sensibilidade a fungicidas apresentada pelo isolado JG1 foi considerada padrão para as comparações. Os valores de CMI, para os outros isolados testados, foram superiores aos valores para esse isolado. Em trabalho conduzido por Schepers (1983), o isolado usado como referência foi mantido em laboratório por mais de dez anos, sem contato algum com qualquer fungicida. Enquanto que, para esse estudo, usou-se um isolado retirado de



plantas de pepino, mantidas em casa de vegetação fechada e isolada, infectadas pelo patógeno por inoculação natural.

Na avaliação verificou-se que a CMI para o isolado JG1 foi de 0,01  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para fenarimol; 0,1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para tebuconazole; 6,25  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para os benzimidazóis e 0,005  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para azoxystrobin. De acordo com os resultados obtidos da CMI, foi possível separar os isolados em grupos.

No teste com fenarimol (Quadro 3), os isolados recuperados de cultivos comerciais como IP, JG2, TT e CB apresentaram CMI idêntica a JG1, resultado que se repetiu no teste com tebuconazole (Quadro 4), pois, provinham de culturas que não receberam aplicação de DMIs. Os isolados MM, CP2 e RDP (Quadro 1) também não apresentaram informação a respeito de aplicação com esses fungicidas. No entanto, a CMI aos DMIs foi maior do que a CMI do isolado JG1 (Quadros 3 e 4).

Ao passo que, todos os isolados que receberam aplicação com DMIs (SAP, EF, CP1, BL e BA) (Quadro 1) apresentaram, como esperado, CMI maior do que a do isolado JG1 para os dois fungicidas (Quadros 3 e 4), sendo diferente entre eles para fenarimol e idêntica para tebuconazole.

Na avaliação do teste com o fungicida fenarimol, os isolados foram separados em cinco grupos. Aqueles considerados menos sensíveis foram SAP, BA e RDP que apresentaram CMI  $\geq 100$  vezes a do isolado JG1. Mesmo não havendo informação sobre aplicação de fungicida para RDP, esse isolado está presente no grupo de menor sensibilidade aos dois fungicidas DMIs. Ao contrário, aplicações com DMIs foram feitas para SAP e BA (Quadro 1).

Com relação ao fungicida tebuconazole, apenas dois grupos foram formados, o dos sensíveis, composto pelos mesmos isolados do teste com fenarimol e o dos menos sensíveis, os demais isolados com CMI dez vezes maior que a do isolado JG1.

No teste com os fungicidas benzimidazóis, foram formados cinco e quatro grupos para benomyl e tiofanato metílico, respectivamente. O grupo dos isolados sensíveis foi o mesmo para os dois fungicidas desse grupo químico, constituído pelos isolados JG1 e CB. Comparando esse com o grupo dos DMIs, houve uma diferença que deu indício de que a sensibilidade a benzimidazóis foi mais restrita para os isolados testados.

Os isolados menos sensíveis, com  $CMI \geq$  oito vezes maior que a CMI do isolado JG1, foram: IP, SAP, JG2, TT e CP1 (Quadro 5).

O número de grupos diminuiu para tiofanato metílico. Nos extremos de sensibilidade, o grupo dos sensíveis, idêntico ao resultado com benomyl, e o grupo dos menos sensíveis com  $CMI \geq$  oito vezes maior que do isolado JG1, que foi composto pelos isolados: IP, SAP, JG2, TT, MM, EF, CP1, e BA (Quadro 6).

Os isolados com CMI diferente do isolado JG1 recuperados de locais onde foram aplicados fungicidas benzimidazóis foram: IP, SAP, TT e CP2. Com exceção desse último, os demais estão no grupo dos isolados menos sensíveis para os dois fungicidas benzimidazóis. Enquanto os isolados recuperados de locais onde não foram aplicados fungicidas benzimidazóis, mas com CMI diferente do isolado JG1, foram: JG2, MM, EF, CP1, BA e RDP.

Em alguns casos, observou-se que isolados obtidos do mesmo local não apresentaram a mesma CMI. Por exemplo, os isolados SAP, EF, CP1 e CP2 mostraram CMI

diferente quando testados com fenarimol, apesar das repostas terem sido uniformes nos testes com os outros fungicidas.

No teste com o fungicida azoxystrobin, diferente dos resultados com DMIs e benzimidazóis, todos os isolados mostraram CMI maior que a do isolado JG1 (Quadro 7), inclusive aqueles que não receberam aplicação do produto. O isolado menos sensível foi BA com CMI de  $0,3 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , enquanto que a maioria apresentou CMI de  $0,03 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , inclusive CP1 que recebeu aplicação com o fungicida.

Comparando a sensibilidade entre os grupos químicos, os isolados menos sensíveis a DMIs foram: SAP, BA e RDP; a benzimidazóis foram: IP, SAP, JG2, TT e CP1 e a azoxystrobin foi BA. De todos os isolados testados, SAP foi considerado o menos sensível e CB sensível a DMIs e benzimidazóis. Nenhum isolado apresentou a sensibilidade de JG1 a azoxystrobin.

Analisando os resultados, podem ser feitas as seguintes constatações: alguns isolados de cultivos comerciais apresentaram CMI igual ao isolado padrão (JG1), com exceção do teste com azoxystrobin; alguns isolados, que não foram submetidos a produtos com o mesmo modo de ação do fungicida testado, apresentaram CMI maior do que a do isolado padrão (JG1); alguns isolados com CMI diferente para fenarimol foram obtidos no mesmo local; o mesmo grupo de isolados foi sensível aos fungicidas com mesmo modo de ação dos DMIs e benzimidazóis; os grupos de sensibilidade formados não foram os mesmos para os diferentes grupos químicos de fungicidas; foi possível obter isolados com diferença de sensibilidade para os fungicidas com mesmo modo de ação; o grupo de isolados sensíveis foi menor para azoxystrobin, seguido dos benzimidazóis e não foi possível relacionar grupos de sensibilidade com tipo de cultivo (campo x protegido).

O fato de isolados de cultivos comerciais terem apresentado a mesma CMI do isolado padrão ou CMI maior, mesmo não recebendo aplicação de compostos do mesmo grupo químico dos fungicidas testados, pode ser consequência do histórico de aplicações realizadas, da seqüência de produtos utilizados, da pressão de seleção, do tipo de manejo, das técnicas culturais e da adaptabilidade dos isolados.

No estudo conduzido por O'Brien (1994), onde foram analisadas populações de *S. fuliginea* de diferentes regiões de produção de cucurbitáceas na Austrália, houve diferença entre os isolados conforme a utilização de fungicida, constatando que quanto menor essa utilização, ou a pressão de seleção, menor a frequência de populações resistentes.

Além disso, a pressão de seleção é intensificada, principalmente, em áreas confinadas como estufas e locais para tratamento de pós-colheita de frutas. Pois, a cobertura eficiente e completa é facilmente alcançada e a competição entre isolados resistentes e sensíveis, que não foram eliminados pelo tratamento químico não ocorre tão facilmente quanto no campo (Wade, 1982). Conforme Hollomon et al. (1990), qualquer perda de adaptabilidade associada à resistência é menos significativa em cultivo protegido, uma vez que o ambiente fechado exclui em grande parte isolados mais sensíveis e adaptados. Em geral, segundo Wade (1982), quanto mais eficiente for a aplicação, maior será a pressão de seleção exercida sobre a população do patógeno, principalmente se somente um tipo de fungicida estiver sendo usado. E se o local for um ambiente fechado, maior a vantagem de isolados resistentes sobre os sensíveis. No entanto, com os dados coletados não foi possível verificar esse aspecto, a não ser relatar a observação que o isolado menos sensível (SAP) foi coletado de estufa comercial de pepino e o isolado sensível (CB) de campo comercial de abóbora.

A ocorrência de um isolado menos sensível e um sensível aos fungicidas DMIs e benzimidazóis, pode, em parte, ser explicado através das informações coletadas. No caso de SAP, o menos sensível, que foi recuperado de estufas comerciais de pepino, a pulverização foi semanal com fungicidas DMIs, benzimidazóis e um organofosforado intercalados (Quadro 1). Os fungicidas DMIs e benzimidazóis testados em laboratório foram os mesmos aplicados na cultura. Além disso, a época da coleta do isolado foi quase no final do ciclo da cultura, favorecendo uma adaptabilidade da população. Enquanto que o isolado sensível a DMIs e benzimidazóis, CB, foi coletado do campo, no início do cultivo e recebeu aplicação esporádica de cymoxanil (Nobre, 2000)<sup>3</sup>, que não é registrado para controlar oídio em cucurbitáceas (Agrofit, 2002).

Mesmo para a falha de controle de oídio, isto é, quando os produtos não estão sendo eficientes, não foram coletados dados para comparar com a sensibilidade encontrada. No entanto, pode-se sugerir que, apesar das diferenças encontradas, a presença de isolados resistentes aos fungicidas não implica, necessariamente, em problemas com a eficiência dos produtos. Conforme Delp & Dekker (1985), quando o nível de resistência é relativamente moderado e/ou a frequência de resistência é baixa, a aplicação do fungicida pode ainda fornecer controle satisfatório. Ainda, segundo Huggenberger et al. (1984), a redução da sensibilidade pode não conduzir à redução da eficácia dos produtos no campo, quando aplicados nas doses recomendadas para o controle de oídio.

Mas, controle insatisfatório a campo já foi constatado para alguns dos fungicidas utilizados nesse estudo, ou com mesmo modo de ação, para *S. fuliginea*. O que leva a reforçar a necessidade de investigações a esse respeito. Schepers (1983) concluiu que o uso de

---

<sup>3</sup> Nobre, S.A.M. (Universidade Federal de Viçosa) Comunicação pessoal, 2000.

DMIs resultou em seleção de isolados de *S. fuliginea* com decréscimo da sensibilidade que pode implicar em perda parcial ou total da eficiência dos produtos. Apesar do processo ser mais lento do que para os benzimidazóis, o surgimento de resistência a campo para DMIs já foi relatado para *S. fuliginea* (Hollomon et al., 1990). Para o fungicida benomyl (Schroeder & Provvidenti, 1969), o caso foi mais rápido e o uso em cultivos comerciais não é mais aconselhado nos Estados Unidos da América desde 1980 (McGrath, 1999).

Genes de resistência a DMIs, que garantem a sobrevivência na presença dos fungicidas, podem ter algum custo de adaptabilidade na ausência dos mesmos. Como nos trabalhos conduzidos por Buchenauer et al. (1984), Henry & Trivellas (1989) e Hollomon (1978), a habilidade de competição e a adaptabilidade de isolados resistentes a DMIs foram inferiores à dos isolados sensíveis, além de produzirem menos conídios do que os sensíveis. Ou nenhuma associação entre adaptabilidade e resistência como nos trabalhos de Peever & Milgroom (1994) e Schepers (1985b), onde a hipótese de que a resistência a DMIs é improvável de desenvolver sob condições práticas devido ao decréscimo na adaptabilidade das estirpes resistentes não parece servir para *S. fuliginea* e a outros patógenos.

Para esse estudo, talvez a adaptabilidade possa ser a explicação dos resultados onde isolados obtiveram CMI maior do que a do isolado JG1 e não receberam pulverizações com fungicidas DMIs e/ou benzimidazóis. Estudos de casos no Brasil não são encontrados para esse patógeno, até o momento.

Esperava-se, e foi confirmado, a identificação de isolados menos sensíveis distintos para cada grupo químico, a formação de grupos de sensibilidade diferentes para cada grupo químico e a presença de isolados sensíveis menor para o grupo dos benzimidazóis. Isso em

decorrência do modo de ação desses grupos químicos serem completamente diferentes (Köller, 1988; Köller & Wuben, 1989; Davidse, 1982).

Porém, nenhum isolado apresentou a mesma CMI do isolado JG1 no teste com azoxystrobin, levando a crer que uma mudança de sensibilidade já está ocorrendo.

A RCPC e o FR podem explicar a ocorrência do mesmo grupo de isolados sensíveis para os fungicidas do mesmo grupo químico, presença de isolados menos sensíveis a um fungicida também ao outro do mesmo grupo químico e a diferença de CMIs para os fungicidas do mesmo grupo químico. A RCPC foi confirmada para os DMIs (Buchenauer et al., 1984; Köller & Scheinpflug, 1987; Leroux, 1992; Hollomon, 1993). Mas, nos trabalhos de Kendall & Hollomon (1990), Kendall et al. (1993) e Erickson & Wilcox (1997) a RCPC foi parcial para os DMIs. Os dados apresentados fortalecem a ocorrência de RC parcial entre fenarimol e tebuconazole que devem ser melhor estudados para uma conclusão mais precisa.

A presença de CMI diferente para fenarimol para isolados do mesmo local de cultivo pode ser em decorrência da mudança gradual da sensibilidade a DMIs, observada inclusive em oídios, onde a herança genética é apontada como sendo quantitativa, isto é, com a interferência de vários genes (Köller & Scheinpflug, 1987). Ou ainda, esse efeito pode estar relacionado ao modo de ação dos fungicidas, já que alguns DMIs podem inibir outros sítios na síntese de esteróis (Köller & Wubben, 1989). A diferença encontrada para os benzimidazóis foi comentada por Keinath (1998). No trabalho, foram constatados isolados de *Didymella bryoniae* resistentes e sensíveis a benomyl que apresentaram resistência a tiofanato metílico, sendo esse último sempre menos inibitório do que o primeiro. Keinath (1998) sugere a possibilidade do alelo que confere resistência ao tiofanato metílico não seja o mesmo alelo que confere resistência a benomyl.

As concentrações utilizadas dos fungicidas foram escolhidas de acordo com a dose de aplicação indicada para cada produto (Agrofit, 2002) e um teste preliminar com alguns isolados. No caso de fenarimol, a dose recomendada para cucurbitáceas corresponde a 0,024  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e tebuconazole a 0,15  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , nesses casos optou-se por concentrações até 1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Em doses maiores houve deterioração do disco antes do crescimento do patógeno. Para benomyl, cuja dose recomendada corresponde a 350  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e tiofanato metílico a 450  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , verificou-se que a maioria dos isolados apresentou pouco desenvolvimento acima de 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . O fungicida azoxystrobin não é registrado para o controle de oídio em cucurbitáceas (Agrofit, 2002), por isso, testou-se uma amplitude maior de concentrações.

A resistência de *S. fuliginea* a fungicidas foi identificada pela concentração, como nos testes conduzidos por McGrath (1991) e McGrath et al. (1996), onde, a redução da sensibilidade a triadimefon a campo foi associada à resistência. O parâmetro usado nesses trabalhos foi o desenvolvimento em discos de folhas pulverizados com 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  do fungicida. Ainda, conforme McGrath & Staniszewska (1994), isolados resistentes a benomyl foram capazes de crescer a 200  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , enquanto que os sensíveis não. Para os isolados sensíveis a triadimefon e propiconazole, a concentração mais alta foi de 0,1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . O'Brien (1994) determinou a resistência para pyrazofós, triadimefon, benomyl e bupirimate com crescimento nas concentrações de 30  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para o primeiro e 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para os demais, também pelo método do disco foliar pulverizado.

Com a CMI do isolado padrão (JG1), pode-se identificar os isolados SAP, EF, CP1, CP2, BA e RDP com resistência a fenarimol e mais MM e BL para tebuconazole. E os isolados IP, SAP, JG2, TT e CP1 com resistência a benomyl e mais MM, EF, e BA para tiofanato



metílico e o isolado BA com resistência a azoxystrobin, nas condições em que os testes foram realizados.

#### **6.4 Teste de sensibilidade de isolados de *Sphaerotheca fuliginea* a fungicidas pulverizados em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação**

##### **6.4.1 Primeiro ensaio: avaliação da sensibilidade de *Sphaerotheca fuliginea* a fungicidas aplicados na dose recomendada em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação**

As CMIs encontradas para os isolados testados com DMIs apresentaram valores maiores do que o esperado (Quadro 8), principalmente quando testados com tebuconazole. No entanto, as CMIs encontradas não refletiram problemas com a eficiência dos produtos. Enquanto que, as CMIs para os benzimidazóis foram altas (Quadro 9) e foi possível associar com a ineficiência de controle de oídio com o fungicida benomyl.

Quadro 8. Concentração mínima inibitória (CMI) dos isolados de *Sphaerotheca fuliginea* recuperados de plantas de pepino tratadas em casa de vegetação no final de dois cultivos e testados pelo método do disco foliar em suspensão com os fungicidas DMIs (primeiro ensaio).

Tratamentos em casa de vegetação de onde foram recuperados os isolados	Concentração mínima inibitória (CMI) final ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )			
	Fungicidas utilizados no teste do disco foliar <i>in vitro</i>			
	Fenarimol		Tebuconazole	
	1 <sup>a</sup> Cultivo	2 <sup>a</sup> Cultivo	1 <sup>a</sup> Cultivo	2 <sup>a</sup> Cultivo
Testemunha	0,01	0,1	0,1	1,0
Fenarimol	0,10	0,1	1,0	1,0
Benomyl	0,01	1,0	0,1	1,0

Quadro 9. Concentração mínima inibitória (CMI) de isolados de *Sphaerotheca fuliginea* recuperados de plantas de pepino tratadas em casa de vegetação no final de dois cultivos e testados pelo método do disco foliar em suspensão com os fungicidas benzimidazóis (primeiro ensaio).

Tratamentos em casa de vegetação de onde foram recuperados os isolados	Concentração mínima inibitória (CMI) final ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )			
	Fungicidas utilizados no teste do disco foliar <i>in vitro</i>			
	Benomyl		Tiofanato metílico	
	1 <sup>a</sup> Cultivo	2 <sup>a</sup> Cultivo	1 <sup>a</sup> Cultivo	2 <sup>a</sup> Cultivo
Testemunha	12,5	12,5	25,0	25,0
Fenarimol	25,0	25,0	25,0	50,0
Benomyl	25,0	50,0	25,0	50,0

Nas plantas pulverizadas com benomyl em casa de vegetação, verificou-se que o fungicida não controlou a doença. Nos tratamentos com fenarimol e tebuconazole houve controle da doença.

No teste com disco foliar tratado com fenarimol, os isolados recuperados da testemunha apresentaram CMI final de  $0,01 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e  $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  no primeiro e segundo cultivo, respectivamente (Quadro 8). No teste com tebuconazole, para esses isolados a CMI final do primeiro cultivo foi de  $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e de  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  para o segundo (Quadro 8). Os resultados da CMI final para benomyl e tiofanato metílico foram os mesmos nos dois cultivos, sendo  $12,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e  $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , respectivamente (Quadro 9).

Os isolados recuperados de plantas tratadas com fenarimol e testados com DMIs e benomyl apresentaram a mesma CMI final nos dois cultivos, sendo  $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  para o teste *in vitro* com fenarimol,  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  no teste com tebuconazole (Quadro 8) e  $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$  no teste com benomyl (Quadro 9). A alteração ocorreu com tiofanato metílico, onde a CMI final foi de  $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$  no primeiro e  $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$  no segundo cultivo (Quadro 9).

Com os isolados recuperados de plantas tratadas com benomyl, houve diferença entre alteração da CMI final com os DMIs e benzimidazóis. No teste *in vitro* com fenarimol a CMI final foi de  $0,01 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e com tebuconazole, foi de  $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  no primeiro e segundo cultivo, respectivamente (Quadro 8). O resultado obtido com os fungicidas benzimidazóis foi idêntico nas duas avaliações (Quadro 9). A CMI final foi de  $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e  $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$  no primeiro e segundo cultivo, respectivamente.

Fazendo-se uma comparação entre os resultados do isolado considerado padrão de sensibilidade JG1 (utilizado no item 6.3) com os resultados dos isolados recuperados de plantas da testemunha e testados com DMIs, a alteração da sensibilidade no segundo cultivo não era esperada, já que o patógeno não sofreu pressão dos fungicidas (Quadro 8). Mesmo a CMI final dos

isolados obtidos das plantas da testemunha e testados com os benzimidazóis, a CMI final foi mais alta (Quadro 9) em relação ao isolado JG1 (Quadros 5 e 6).

Supõe-se que pode ter ocorrido contaminação dos utensílios com isolados recuperados dos tratamentos com fungicidas; ou a mistura de isolados de diferentes tratamentos, pois as plantas foram mantidas em casa de vegetação com ventilação artificial; ou a presença de isolados com níveis de sensibilidade diferentes na população testada. No caso dos benzimidazóis, a sensibilidade dos isolados já poderia estar alterada para benomyl e tiofanato metílico. Esses fatos, porém, não foram investigados.

Outro resultado que não foi possível observar está relacionado com os isolados recuperados e testados *in vitro* com o mesmo fungicida da pulverização das plantas, quando esperava-se que apresentassem CMI final maior que os isolados não submetidos à pressão de seleção. Os dados parecem refletir uma diversidade de sensibilidade, não importando tanto, a pulverização do tratamento.

Apesar dos fungicidas tebuconazole e fenarimol serem do mesmo grupo químico, os resultados foram diferentes. Para o fungicida tebuconazole, as CMIs obtidas foram maiores do que as obtidas para fenarimol. Sendo que, dos isolados testados nenhum procedeu das plantas tratadas com tebuconazole. Em relação aos benzimidazóis, os valores de CMI mais altos foram obtidos para tiofanato metílico, mesmo não fazendo parte do tratamento em casa de vegetação. Essas observações também foram feitas para os isolados testados no item 6.3. Mas, como nesse ensaio a infecção do inóculo foi proveniente de plantas instaladas dentro da casa de vegetação e infectadas pelo ar, pode ser que o inóculo já apresentasse alteração da sensibilidade,

sendo proveniente de locais de aplicação de fungicidas. Outra possibilidade, mencionada anteriormente, é a interferência dos isolados do próprio ensaio.

A observação feita com relação à RCPC entre fenarimol e tebuconazole e benomyl e tiofanato metílico é novamente reforçada com esses dados conforme foi discutido no item 6.3.

Os resultados observados nesse ensaio comprovam a falha no controle de oídio de cucurbitáceas com os fungicidas benomyl e tiofanato metílico, pela facilidade de infecção pós-tratamento e a sensibilidade reduzida, diferente do isolado considerado como padrão de sensibilidade (JG1) (Quadros 5 e 6).

Porém, no caso dos fungicidas DMIs, pelo fato de ter havido o controle da doença em casa de vegetação, as CMIs encontradas parecem não ter conseqüências sérias na eficiência dos produtos, sendo necessário detalhar mais informações a esse respeito antes de confirmar essa afirmativa. Além disso, nenhum isolado se desenvolveu na concentração mais alta ( $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), que no teste anterior foi considerada como indicação de resistência para alguns isolados (item 6.3). Também não é descartado que a redução na sensibilidade já esteja ocorrendo para os fungicidas DMIs.

Segundo Brent (1995), a resistência a DMIs ocorre de forma relativamente lenta e com severidade flutuante, como é característica da resistência poligênica. Essas considerações são reforçadas por Hollomon et al. (1990) que ressaltam que alguma variação na sensibilidade aos fungicidas DMIs parece inevitável em todos os patógenos alvos. A extensão dessa variação vai depender do patógeno e da sensibilidade do sistema de avaliação disponível.

O fato da mudança de sensibilidade ter ocorrido não acarreta necessariamente em problemas com a eficiência do produto a campo. Conforme foi observado, o controle da doença foi eficiente com os DMIs, porém falho com benomyl. No trabalho conduzido por Heaney et al. (1984), por exemplo, foi verificada a sensibilidade de populações de oídio da cevada (*B. graminis* f. sp. *hordei*) a três fungicidas sistêmicos, entre os quais triadimenol, no Reino Unido. Os dados coletados pelos autores, em 1984, indicaram que a sensibilidade do fungo a triadimenol havia diminuído em relação a isolados coletados antes de 1980. Porém, essa mudança não acarretou em falha no controle da doença.

Mas, por outro lado, a mudança pode comprometer o uso de determinado grupo químico de fungicidas, que no caso dos benzimidazóis, segundo as observações feitas nesse ensaio, está bem clara, ao contrário dos DMIs. Na literatura, é possível encontrar estudos como a pesquisa realizada entre 1981 e 1984, conduzida por Wolfe et al. (1984), que verificaram que a população de oídio da cevada na Inglaterra tornou-se menos sensível aos fungicidas triazóis em decorrência do uso contínuo desses compostos. A seguir (Wolfe, 1985), a resistência tornou-se difundida na população e a patogenicidade dos isolados resistentes havia aumentado em relação a anos anteriores, comprometendo a utilização de triazóis. De Waard et al. (1986) verificaram a variação na sensibilidade a triadimefon entre 1982 e 1984 em oídio do trigo e também correlacionaram a sensibilidade reduzida ao fungicida como parte responsável pelo declínio da eficiência dos triazóis a campo durante esses anos.

O problema com os fungicidas benzimidazóis parece ser mais grave, devido ao fato da resistência surgir pela mutação em um único gene, reduzindo a afinidade do princípio ativo à tubulina (Davidse & Flach, 1977). Nos Estados Unidos da América, o uso de benomyl é altamente

arriscado. McGrath (1996) realizou um trabalho onde a sensibilidade de *S. fuliginea* foi monitorada durante epidemias de oídio a campo em abóbora. Foram detectados isolados resistentes a benomyl em todas as populações antes do uso do produto. Num estudo seguinte, isolados resistentes a triadimefon e isolados resistentes a benomyl foram encontrados em campos comerciais de produção de cucurbitáceas e parcelas de pesquisa que não tinham sido tratados com esses fungicidas em vários locais dos Estados Unidos da América. Os isolados resistentes a triadimefon foram menos sensíveis a outros dois fungicidas triazóis não registrados para uso em cucurbitáceas nos Estados Unidos da América (myclobutanil e propiconazole) quando o estudo foi realizado (McGrath et al., 1996).

#### **6.4.2 Segundo ensaio: avaliação da sensibilidade de *Sphaerotheca fuliginea* a diferentes concentrações de fungicidas em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação**

O oídio em pepino cultivado em casa de vegetação foi controlado pelos fungicidas fenarimol e tebuconazole nas duas avaliações no primeiro (Quadro 10) e segundo cultivo (Quadro 11). Ao passo que, as pulverizações com o fungicida benomyl não foram eficientes para manter a severidade da doença em nível baixo no final do ensaio (Quadros 10 e 11).

Quadro 10. Severidade de oídio, *Sphaerotheca fuliginea*, em pepino cultivado em casa de vegetação, nas diferentes doses dos fungicidas fenarimol, tebuconazole e benomyl (primeiro cultivo do segundo ensaio).

Tratamentos em casa de vegetação	Severidade de oídio em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação e tratadas com fungicidas (%)					
	Fenarimol*		Tebuconazole**		Benomyl***	
	1 <sup>a</sup> avaliação	2 <sup>a</sup> avaliação	1 <sup>a</sup> avaliação	2 <sup>a</sup> avaliação	1 <sup>a</sup> avaliação	2 <sup>a</sup> avaliação
Testemunha	20,83	56,53	21,25	59,86	20,85	59,37
Dose/2	0,00	6,97	0,00	6,22	9,57	56,94
Dose recomendada	0,00	3,67	0,00	2,42	4,33	48,39
Dose x 2	0,00	2,88	0,00	0,28	2,17	46,78
R <sup>2</sup>	0,87	0,90	0,86	0,92	0,86	0,39

\*Dose/2 = 10 mL.100L<sup>-1</sup>; dose recomendada = 20 mL.100L<sup>-1</sup>; Dose x 2 = 40 mL.100L<sup>-1</sup>.

\*\* Dose/2 = 37,5 mL.100L<sup>-1</sup>; dose recomendada = 75 mL.100L<sup>-1</sup>; Dose x 2 = 150 mL.100L<sup>-1</sup>.

\*\*\* Dose/2 = 35 g.100L<sup>-1</sup>; dose recomendada = 70 g.100L<sup>-1</sup>; Dose x 2 = 140 g.100L<sup>-1</sup>.

No primeiro cultivo, os fungicidas fenarimol e tebuconazole inibiram totalmente o desenvolvimento da doença na metade da dose, na dose recomendada e no dobro da dose, enquanto que na testemunha a severidade da doença foi próximo a 20 %, na primeira

Quadro 11. Severidade de oídio, *Sphaerotheca fuliginea*, em pepino cultivado em casa de vegetação, nas diferentes doses dos fungicidas fenarimol, tebuconazole e benomyl (segundo cultivo do segundo ensaio).

Tratamentos em casa de vegetação	Severidade de oídio em plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação e tratadas com fungicidas (%)					
	Fenarimol*		Tebuconazole**		Benomyl***	
	1 <sup>a</sup> avaliação	2 <sup>a</sup> avaliação	1 <sup>a</sup> avaliação	2 <sup>a</sup> avaliação	1 <sup>a</sup> avaliação	2 <sup>a</sup> avaliação
Testemunha	77,22	77,09	92,36	79,36	92,36	83,00
Dose/2	4,67	6,33	2,21	2,78	43,22	74,25
Dose recomendada	2,67	2,88	0,41	0,98	43,90	72,59
Dose x 2	3,86	1,94	0,00	0,20	68,94	69,86
R <sup>2</sup>	0,89	0,91	0,90	0,89	0,71	0,36

\*Dose/2 = 10 mL.100L<sup>-1</sup>; dose recomendada = 20 mL.100L<sup>-1</sup>; Dose x 2 = 40 mL.100L<sup>-1</sup>.



\*\*Dose/2 = 37,5 mL.100L<sup>-1</sup>; dose recomendada = 75 mL.100L<sup>-1</sup>; Dose x 2 = 150 mL.100L<sup>-1</sup>.

\*\*\*Dose/2 = 35 g.100L<sup>-1</sup>; dose recomendada = 70 g.100L<sup>-1</sup>; Dose x 2 = 140 g.100L<sup>-1</sup>.

avaliação ( $R^2 = 0,87$  e  $0,86$ , respectivamente). Na segunda avaliação, os mesmos fungicidas mantiveram a severidade da doença em níveis insignificantes, enquanto que a severidade na testemunha ficou entre 50 % e 60 % ( $R^2 = 0,90$  e  $0,92$ , respectivamente).

No segundo cultivo, com a severidade da doença na testemunha variando entre 77 % a 92 %, os resultados da eficiência dos fungicidas fenarimol e tebuconazole foram confirmados, tanto na primeira ( $R^2 = 0,89$  e  $0,90$ , respectivamente) como na segunda avaliação ( $R^2 = 0,91$  e  $0,89$ , respectivamente).

Portanto, para os fungicidas fenarimol e tebuconazole, o resultados das pulverizações de plantas de pepino em casa de vegetação levam a crer que não haja ainda problema de resistência pela baixa severidade da doença encontrada nos tratamentos com as doses testadas, apesar de alguns problemas com resistência a DMIs serem detectados em oídios, inclusive do pepino (Hollomon, 1993; Brent, 1995) e pela facilidade de obtenção de mutantes resistentes em laboratório (Hollomon et al., 1990).

Ainda, mesmo que tenha ocorrido alteração na sensibilidade, não se têm informações suficientes para saber se essa mudança é importante no momento com a performance dos produtos a campo. A resistência a DMIs em *S. fuliginea* é relatada por vários autores (Schepers, 1983; Huggenberger et al., 1984; Schepers, 1984a; Schepers, 1985a; O'Brien, 1994; McGrath, 1996; McGrath et al., 1996; Del Pino et al., 1999) e apesar do risco de desenvolvimento de resistência ser considerado médio (Hollomon, 1993), vários fatores podem influenciar para que se torne um problema mais sério.

As doses utilizadas do fungicida benomyl reduziram a severidade da doença na primeira avaliação, tanto no primeiro quanto no segundo cultivo ( $R^2 = 0,86$  e  $0,71$ , respectivamente). No entanto, a severidade da doença, no primeiro cultivo, ficou bem superior aos fungicidas fenarimol e tebuconazole. No segundo cultivo, com uma maior pressão de inóculo, o benomyl não impediu que o oídio atingisse 43 % a 68 % de severidade. Na segunda avaliação dos dois cultivos, todas as doses do fungicida mantiveram a severidade da doença muito próximas entre si e entre a testemunha ( $R^2 = 0,39$  e  $0,36$ , respectivamente).

Os resultados obtidos com benomyl nesses experimentos podem ser explicados pelo modo de ação do fungicida ser em sítio específico (Davidse & Flach, 1977) e, segundo Brent & Hollomon (1998), os benzimidazóis estão no grupo dos fungicidas de alto risco para ocorrência de resistência que uma vez estabelecida, em geral, é persistente, a resistência para esse fungicida já era esperada em *S. fuliginea*. No entanto, nenhum trabalho havia comprovado ainda esse fato para oídio em cucurbitáceas no Brasil. A ineficiência do produto está associada a *S. fuliginea* em publicações internacionais como Schroeder & Provvidenti, 1969; Netzer & Dishon, 1970; Petsikos-Panayotarou, 1977; Schepers, 1984a; McGrath, 1996 e McGrath et al., 1996. O problema se tornou tão sério para vários patógenos que o produto não está sendo mais comercializado.

O desenvolvimento dos isolados recuperados do tratamento com benomyl, nos testes *in vitro*, não tiveram influência das doses de pulverização no final dos ensaios. Quando os mesmos foram recuperados de plantas de pepino tratadas em casa de vegetação com as diferentes doses de benomyl o crescimento nos discos tratados teve pouca ou nenhuma variação. Ao contrário, no tratamento com fenarimol, só foi possível recuperar isolados do tratamento com metade da dose,

comprovando a eficácia da dose recomendada no controle do patógeno. No tratamento com tebuconazole não foi possível recuperar nenhum isolado, também sendo eficiente no controle da doença.

Quando foi realizada a recuperação dos isolados das plantas tratadas com as diferentes doses, era esperado que no tratamento com benomyl a coleta fosse fácil devido ao controle ter sido falho, o que aconteceu. Porém, também obteve-se isolados dos tratamentos com DMIs, principalmente tebuconazole na segunda avaliação, que mesmo com o controle apresentou material para análise. Das plantas tratadas com fenarimol foi mais difícil visualizar colônias para recuperação de isolados, sendo possível obter isolados somente do tratamento com metade da dose. A eficiência dos DMIs em controlar oídio foi equivalente, apesar da diferença entre as CMI's encontradas.

Os resultados com a avaliação dos fungicidas *in vitro* estão apresentados nas Figuras 5, 6 e 7 com fenarimol; 8, 9 e 10 com tebuconazole; 11, 12 e 13 com benzimidazol e 14, 15 e 16 com tiofanato metílico.

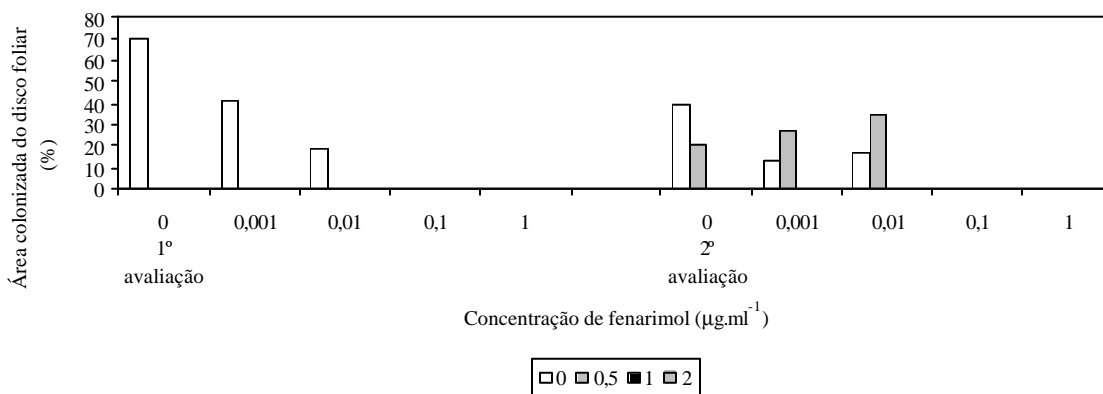


Figura 5. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de fenarimol, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com fenarimol: 0 = água; 0,5 = meia dose (10 mL.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (20 mL.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (40 mL.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.

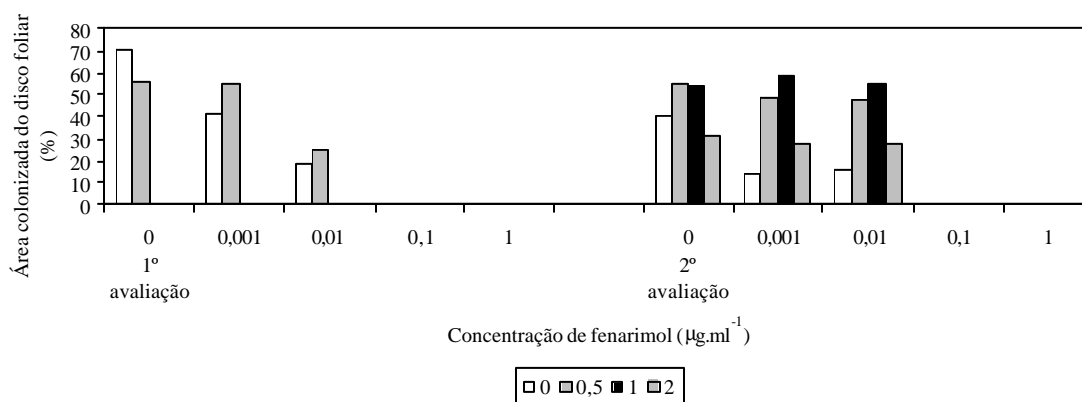


Figura 6. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de fenarimol, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com tebuconazole: 0 = água; 0,5 = meia dose (37,5 mL.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (75 mL.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (150 mL.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.

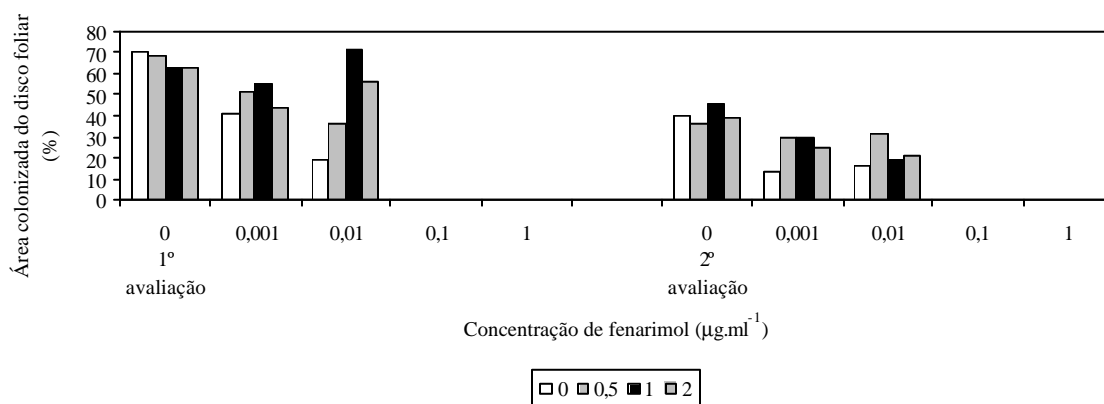


Figura 7. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de fenarimol, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com benomyl: 0 = água; 0,5 = meia dose (35 g.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (70 g.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (140 g.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.

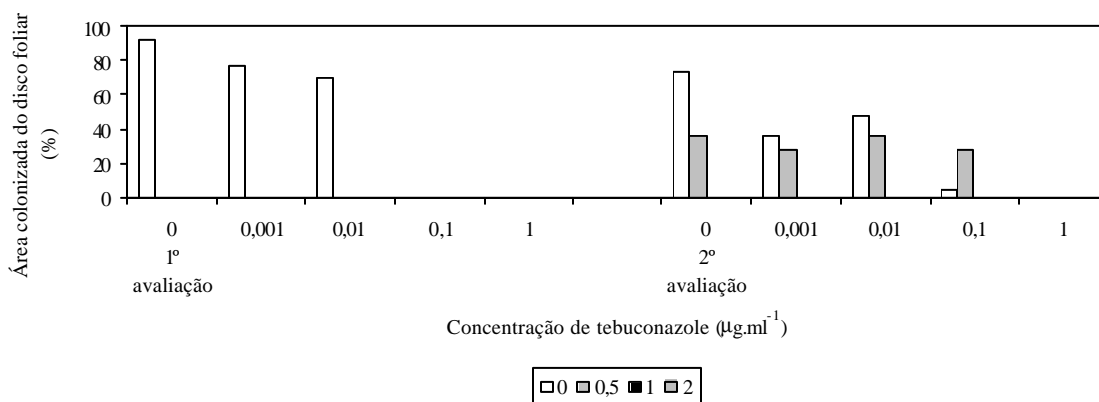


Figura 8. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tebuconazole, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com fenarimol: 0 = água; 0,5 = meia dose (10 mL.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (20

mL.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (40 mL.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.

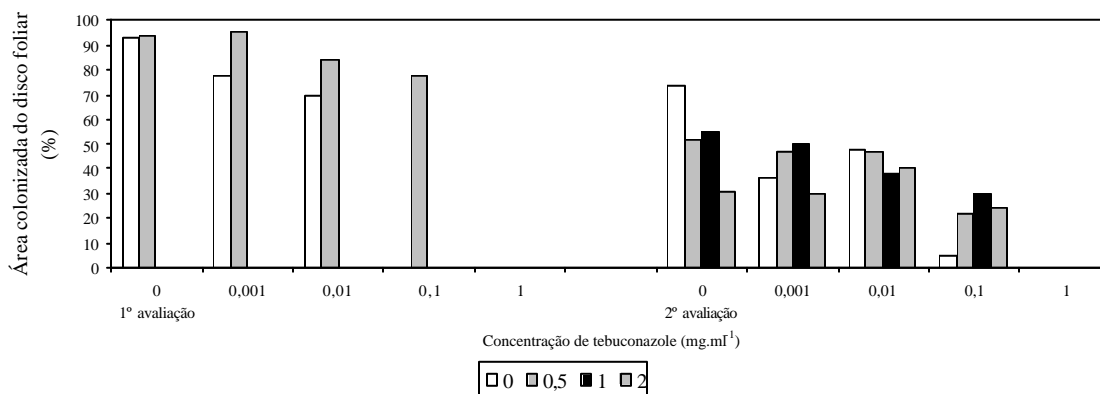


Figura 9. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tebuconazole, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com tebuconazole: 0 = água; 0,5 = meia dose (37,5 mL.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (75 mL.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (150 mL.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.

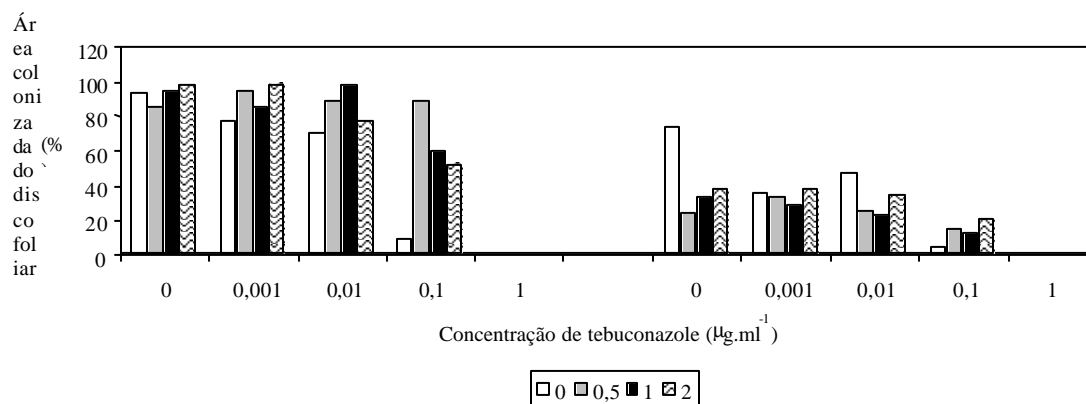


Figura 10. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tebuconazole, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com benomyl: 0 = água; 0,5 = meia dose (35 g.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (70 g.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (140 g.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.

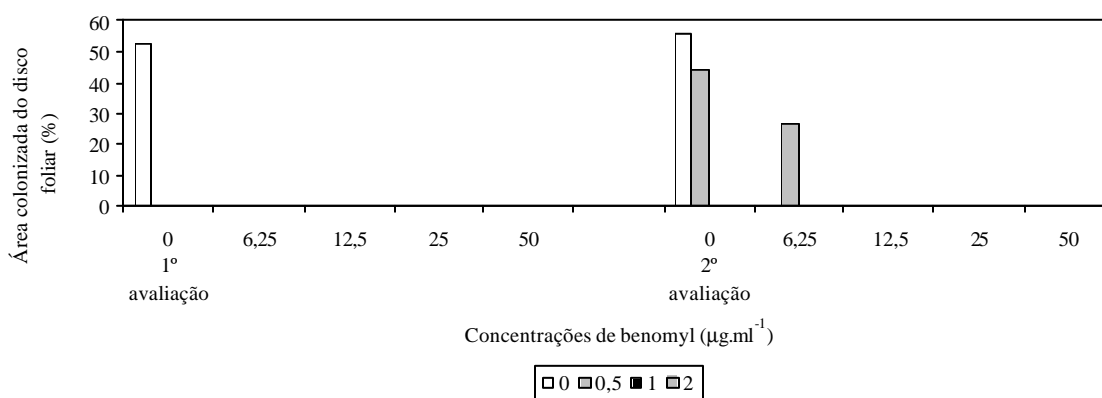


Figura 11. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de benomyl, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com fenarimol: 0 = água; 0,5 = meia dose (10 mL.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (20 mL.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (40 mL.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.

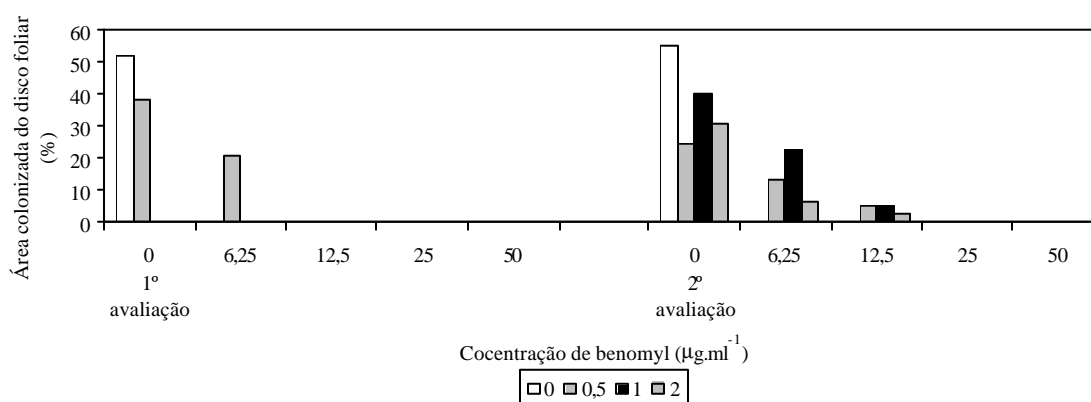


Figura 12. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de benomyl, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com tebuconazole: 0 = água; 0,5 = meia dose (37,5 mL.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (75 mL.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (150 mL.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.

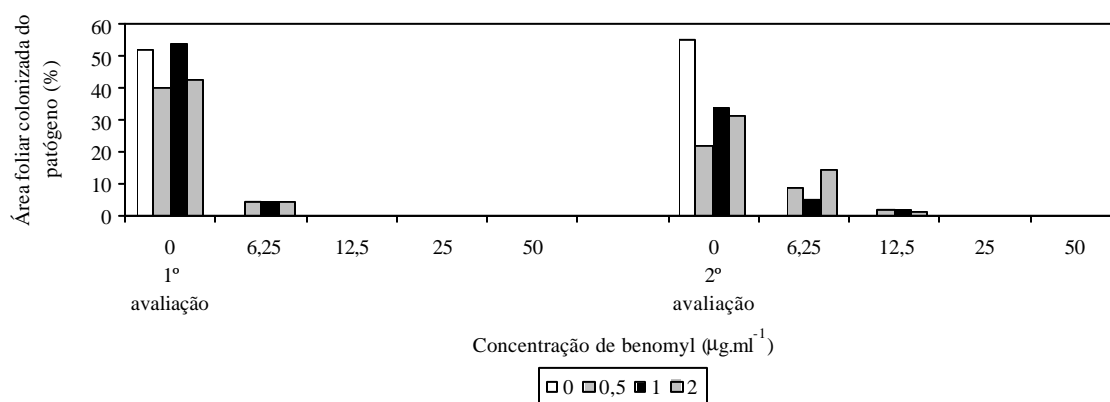


Figura 13. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de benomyl, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com benomyl: 0 = água; 0,5 = meia dose (35 g.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (70 g.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (140 g.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.



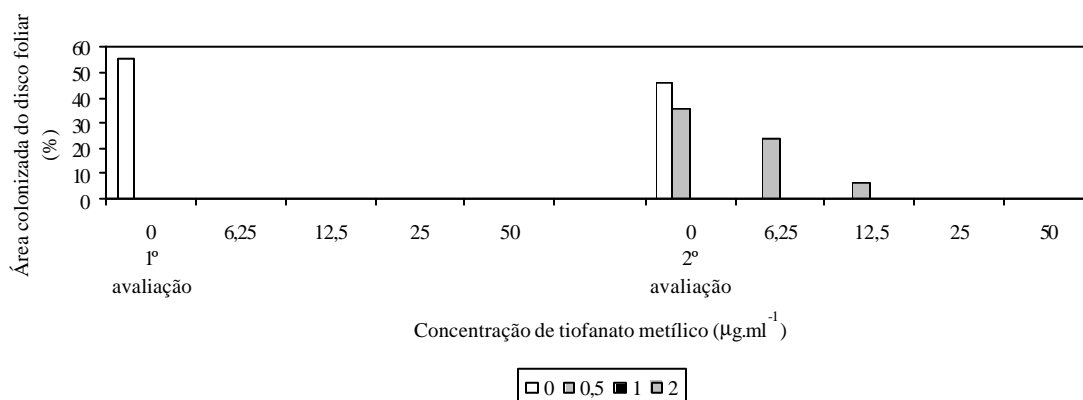


Figura 14. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com fenarimol: 0 = água; 0,5 = meia dose (10 mL.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (20 mL.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (40 mL.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.

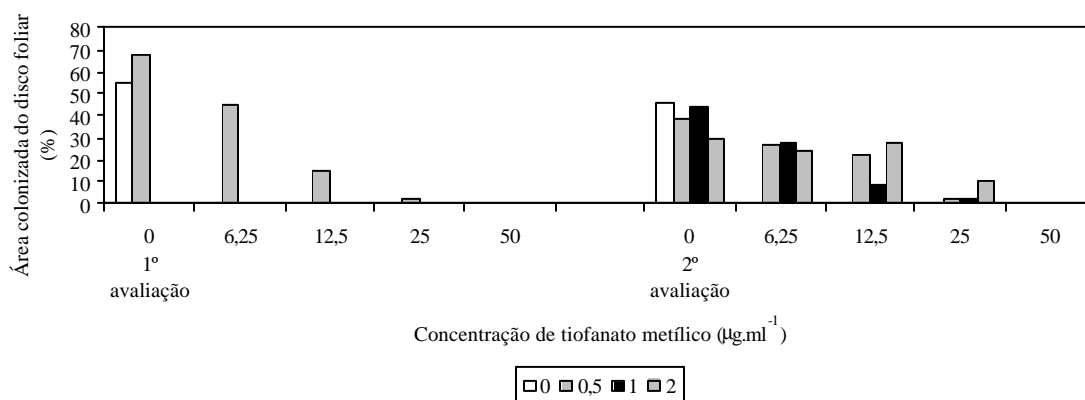


Figura 15. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com tebuconazole: 0 = água; 0,5 = meia dose (37,5 mL.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (75 mL.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (150 mL.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.

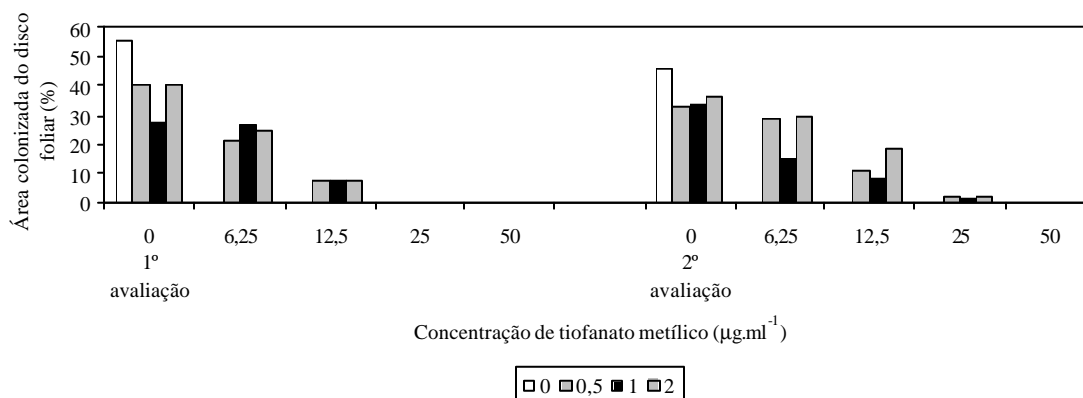


Figura 16. Área colonizada por *Sphaerotheca fuliginea* em discos foliares, tratados com diferentes concentrações de tiofanato metílico, recuperado de plantas de pepino pulverizadas com benomyl: 0 = água; 0,5 = meia dose (35 g.100 L<sup>-1</sup>); 1 = dose recomendada (70 g.100 L<sup>-1</sup>); 2 = dobro da dose (140 g.100 L<sup>-1</sup>), em casa de vegetação no primeiro cultivo do segundo ensaio em duas avaliações.

No teste *in vitro* com fenarimol, das plantas tratadas com o mesmo fungicida em casa de vegetação, só foi possível obter isolados na segunda avaliação e na dose de pulverização mais baixa, ou seja, metade da dose. A CMI foi igual a dos isolados recuperados da testemunha, 0,1 µg.mL<sup>-1</sup> (Figura 5). Com os isolados do tratamento de plantas com tebuconazole e testados *in vitro* com fenarimol, só foi possível recuperar o fungo da metade da dose na primeira avaliação. Porém, na segunda não houve diferença entre a CMI dos isolados recuperados de todas as doses (0,1 µg.mL<sup>-1</sup>), com diferença na porcentagem de crescimento no disco foliar (Figura 6). Com os isolados recuperados das plantas tratadas com benomyl e testados nas diferentes concentrações de fenarimol desde a primeira avaliação foi possível obter isolados de todas as doses pulverizadas com o fungicida (Figura 7). Não se esperava, entretanto que os isolados influenciados

pela pressão de seleção com benomyl, desenvolvessem em concentrações do fungicida fenarimol que pertence à classe química distinta.

Os resultados do teste *in vitro* com tebuconazole são parecidos com os dados mostrados para fenarimol. Quando os isolados foram recuperados de plantas tratadas com fenarimol também só foi possível obter isolados de plantas tratadas com metade da dose do fungicida na segunda avaliação. O que modificou foi a CMI que na primeira avaliação foi de  $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  para os isolados recuperados da testemunha e na segunda avaliação foi de  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  para os isolados recuperados da testemunha e do tratamento com metade da dose (Figura 8). Para os isolados recuperados das pulverizações com tebuconazole e testados *in vitro* com o mesmo fungicida, na primeira avaliação, apenas isolados da testemunha e do tratamento com metade da dose foram recuperados, no entanto, com CMIs diferentes,  $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , respectivamente (Figura 9). Na segunda avaliação, os isolados recuperados de todos os tratamentos obtiveram CMI de  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ .

Os isolados do tratamento com benomyl foram recuperados de todas as doses e quando testados *in vitro* com tebuconazole apresentaram CMI de  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  nas duas avaliações (Figura 10), semelhante ao resultado *in vitro* com fenarimol, porém com CMI menor.

Nos testes *in vitro* com os fungicidas benzimidazóis repetiram-se as observações feitas com relação à recuperação e às doses. No teste com isolados obtidos de plantas pulverizadas com fenarimol, a recuperação de inóculo foi possível na segunda avaliação na metade da dose, com CMI diferente entre os isolados recuperados da testemunha e do tratamento com o fungicida DMI (Figura 11). Mesmo pertencendo ao grupo químico do fenarimol, os isolados recuperados do tratamento com tebuconazole e testados *in vitro* com benomyl, apresentaram CMI diferente nas duas avaliações (Figura 12). E, como constatado anteriormente, na primeira avaliação

isolados foram recuperados da metade da dose e na segunda avaliação de todas as doses. Os isolados recuperados do tratamento com benomyl e testados *in vitro* com benomyl (Figura 13) diferiram quanto à CMI entre as avaliações, mas não houve interferência das doses.

Mesmo que o fungicida tiofanato metílico não tenha sido aplicado nas plantas, já se esperava que as CMIs fossem maiores que as obtidas no teste *in vitro* com benomyl, em vista dos resultados anteriores, o que foi confirmado para todos os isolados testados. O resultado repetiu-se com diferença entre CMIs e desenvolvimento do inóculo entre os benzimidazóis, o que pode ser observado para os isolados recuperados dos tratamentos com fenarimol (Figura 14), tebuconazole (Figura 15) e benomyl (Figura 16).

Verificou-se que apesar da severidade da doença ter sido maior na segunda avaliação, o desenvolvimento dos isolados nos testes *in vitro* foi menor para todos os fungicidas testados.

Mesmo assim, o período entre as avaliações forneceu condições para que na segunda avaliação aumentasse a CMI principalmente nos testes *in vitro* com benzimidazóis.

A CMI dos isolados recuperados das plantas consideradas testemunha não modificou nas avaliações dos testes *in vitro* com fenarimol e benzimidazóis. Mas no primeiro caso foi considerada alta quando comparada com a CMI do isolado considerado padrão de sensibilidade JG1 (item 6.4), assim como no teste *in vitro* com tebuconazole onde chegou a  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  em todos os tratamentos.

A pressão de seleção das aplicações com os fungicidas DMIs sobre o inóculo, não foi suficiente para comprometer a eficiência do produto, ao contrário do fungicida benomyl. Segundo Ghini & Kimati (2002), a aplicação contínua de determinado produto, ou de

produtos que apresentam RCPC, aumenta as chances de desenvolvimento de resistência. O fungicida tiofanato metílico também é recomendado para controlar oídio em cucurbitáceas (Agrofit, 2002), mas em consequência dos dados analisados considera-se o risco de ineficiência do produto o mesmo do fungicida benomyl. Com esses resultados, fica claro que o número de aplicações e o uso de tiofanato metílico devem ser acompanhados com atenção.

Ghini & Kimati (2002) comentam que alterações na dose de aplicação, principalmente redução, apresentam resultados controversos, onde o risco pode aumentar com o aumento da dose, devido à maior pressão de seleção em favor de linhagens com alto grau de resistência, ou para resistência poligênica, o desenvolvimento é lento com baixas doses, porque há pouca pressão de seleção, atingindo um máximo, em doses intermediárias, que selecionam linhagens com baixo grau de resistência e declina com doses maiores, que eliminam tais linhagens. Mas, trabalhos de modelos matemáticos são necessários para uma melhor análise dos efeitos e riscos das doses.

O fungicida fenarimol mostrou que mesmo na segunda avaliação não foi possível recuperar isolados dos tratamentos com a dose recomendada e o dobro da dose. Esses resultados são compatíveis com os resultados de controle obtidos para o fungicida. No caso do fungicida tebuconazole, a recuperação dos isolados na primeira avaliação só foi possível na metade da dose, entretanto, na segunda avaliação foi possível recuperar isolados de todas as doses. Essa alteração, também demonstrada pela CMI não interferiu na eficiência do produto, que segundo Heaney et al. (1984) pode acontecer. Conforme comentado anteriormente, a diferença entre esses fungicidas pode estar relacionada com a RC parcial.

## 7 CONCLUSÕES

- 1) O método do disco foliar flutuando em solução do fungicida é viável para verificar a sensibilidade de *Sphaerotheca fuliginea* a fungicidas;
- 2) Isolados de *S. fuliginea*, provenientes de cultivo de cucurbitáceas, apresentam diferentes concentrações mínimas inibitórias (CMIs) aos fungicidas testados e é possível identificar isolados com diferentes sensibilidades a inibidores da demetilação (DMIs), benzimidazóis e estrobilurina;
- 3) Os fungicidas benzimidazóis, benomyl e tiofanato metílico, não são eficientes no controle de oídio em cucurbitáceas em casa de vegetação, devido ao desenvolvimento de resistência no patógeno;
- 4) Os fungicidas DMIs, fenarimol e tebuconazole, são eficientes em controlar oídio em cucurbitáceas, apesar da ocorrência de isolados com redução de sensibilidade.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, L.A.S de, LEITE, O.M. Manual de quantificação de doenças de plantas. São Paulo: Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento Ciba Agro São Paulo, 1996. 73p.

BEDENDO, I.P. Oídios. In: BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIM, L. (Eds.) Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3.ed., v.1, São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1995. p.866-871.

BORGES, R.M.E. Estudo da herança da resistência ao oídio *Sphaerotheca fuliginea* (Schelecht. ex. Fr.) Poll em melancia *Citrillus lanatue* Thumb.Mansf. Recife, 1997. 46p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará.

BRENT, K.J. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? Brussels: GIFAP, 1995. 48p. (FRAC Monograph, n.1).

BRENT, K.J., HOLLOMON, D.W. Fungicide resistance: the assessment of risk. Brussels: GCPF, 1998. 48p. (FRAC Monograph n.2).

BUCHENAUER, H. BUDDE, K.H., HELLWALD, E., TAUBE, E., KIRCHNER, R. Decreased sensitivity of barley powdery mildew isolates to triazole and related fungicides. Proceedings 1984 British Crop Protection Conference - pests and diseases, v.2, p.483-488, 1984.

COHEN, Y., BAIDER, A., PETROV, L., SHECK, L., VOLOISKY, V. Cross-infectivity of *Sphaerotheca fuliginea* to watermelon, melon, and cucumber. Proc. Cucurbitaceae, p.85-88, 2000.

DAVIDSE, L.C. Benzimidazole compounds: selectivity and resistance. In: Dekker, J., Georgopoulos, S.G., (Eds). Fungicide resistance in crop protection. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. p.60-70.

DAVIDSE, L.C., FLACH, W. Differential binding of methyl benzimidazol-2-yl carbamate to fungal tubulin as a mechanism of resistance to this antimetabolic agent in mutant strains of *Aspergillus nidulans*. The Journal of Cell Biology, v. 72, p.174-193, 1977.

De WAARD, M.A., KIPP, E.M.C., HORN, N.M., Van NISTELROOY, J.G.M. Variation in sensitivity to fungicides which inhibit ergosterol biosynthesis in wheat powdery mildew. Netherlands Journal of Plant Pathology, v.92, p.21-32, 1986.



- DEKKER, J. Development of resistance to modern fungicides and strategies for its avoidance. In: LYR, H. (Ed.) Modern Selective Fungicides – properties, applications, mechanisms of action. 2.ed. New York: VCH, 1995. p.23-38.
- DEKKER, J. Introduction. In: DEKKER, J., GEORGOPOULOS, S.G. (Eds.) Fungicide resistance in crop protection, Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. p.1-6.
- DEKKER, J. Resistance. In: MARSH, R.W. (Ed.) Systemic fungicides. 2.ed. London: Butler & Tanner, 1977. p.176-197.
- DEKKER, J., GEORGOPOULOS, S.G. Fungicide resistance in crop protection, Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. 264 p.
- DEKKER, J., GIELINK, A.J. Decreased sensitivity to pyrazophos of cucumber and gherkin powdery mildew. Netherlands Journal of Plant Pathology, v.85, p.137-142, 1979.
- Del PINO, OLALLA, L., CÁNOVAS, I., CAZORLA, F.M., De VICENTE, A., TORÉS, J.A. Resistance to fungicides of *Sphaerotheca fuliginea* strains isolated from Southern Spain. In: PROCEEDINGS OF FIRST INTERNATIONAL POWDERY MILDEW CONFERENCE, 1999, Avignon. Avignon:, 1999. p.42. (Abstracts)

DELP, C.J.; DEKKER, J. Fungicide resistance: definitions and use of terms. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, v.15, p.333-335, 1985.

DIAS, R. de C.S., QUEIROZ, M.A.de, MENEZES, M., BORGES, R.M.E. Avaliação de resistência a *Sphaerotheca fuliginea* e a *Didymella bryoniae* em melancia. Horticultura Brasileira, v.17, p.13-19, 1999. (Suplemento).

ERICKSON, E.O., WILCOX, W. Distributions of sensitivities to three sterol demethylation inhibitor fungicides among populations of *Uncinula necator* sensitive and resistant to triadimefon. Phytopathology, v.87, p.784-791, 1997.

FRAC. FRAC methods for monitoring fungicide resistance. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, v.21, p.291-354, 1991.

GHINI, R. Solarização do solo. In: GOTO, R., TRIVELLI, S.W. (Orgs.) Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais. São Paulo: Fundação Editora da UNESP, 1998. p.31-52.

GHINI, R., KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. 2.ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2002. 78p.

HEANEY, S.P., HUMPHREYS, G.J., HUTT, R., MONTIEL, P., JEGERINGS, P.M.F.E.

Sensitivity of barley powdery mildew to systemic fungicides in the U.K. Proceedings 1984 British Crop Protection Conference - Pests and Diseases, v.2, p. 459-464, 1984.

HENRY, M.J., TRIVELLAS, A.E. Laboratory-induced fungicide resistance to benzimidazole and

azole fungicides in *Cercospora beticola*. Pesticide Biochemistry and Physiology, v.35, p.89-96, 1989.

HOLLOMON, D.W. Competitive ability and ethirimol sensitivity in strains of barley powdery

mildew. Annual Applied Biology, v.90, p.195-204, 1978.

HOLLOMON, D.W. Resistance to azole fungicides in the field. Biochemical Society Transactions,

v.21, n.4, p.1047-1051, 1993.

HOLLOMON, D.W., BUTTERS, J. New approaches to detecting fungicide resistance. Agro-

Food-Industry Hi-Tech, p.20-23, 1992.

HOLLOMON, D.W., BUTTERS, J. A., HARGREAVES, J.A. Resistance to sterol biosynthesis-

inhibiting fungicides: current status and biochemical basis. In: ACS SYMPOSIUM SERIES, 421, 1990, Washington. Washington:: American Chemical Society, 1990. p.199-214.

- HUGGENBERGER, F., COLLINS, M.A., SKYLAKAKIS, G. Decreased sensitivity of *Sphaerotheca fuliginea* to fenarimol and other ergosterol-biosynthesis inhibitors. *Crop Protection*, v.3, n.2, p.137-149, 1984.
- IIDA, W. On the tolerance of plant pathogenic fungi and bacteria to fungicides in Japan. *Japanese Pesticide Information*, v.23, p.13, 1975.
- KENDALL, S.J., HOLLOMON, D.W. DMI resistance and sterol 14 $\alpha$  demethylation in *Rhynchosporium secalis*. 1990 Brighton Crop Protection Conference - Pests and Diseases, v.3, p.1129-1134, 1990.
- KENDALL, S.L., HOLLOMON, D.W., COOKE, L.R., JONES, D.R. Changes in sensitivity to DMI fungicides in *Rhynchosporium secalis*. *Crop Protection*, v.12, n.5, p.357-362, 1993.
- KHAN, M.W., SHARMA, G.K. Taxonomic evaluation of anamorph characters in identification of powdery mildew fungi on cucurbits. *Indian Phytopathology*, v.48, n.3, p. 314-324, 1995.
- KÖLLER, W. Sterol demethylation inhibitors: mechanism of action and resistance. In: DELP, C.J. (Ed.) *Fungicide resistance in North America*. St. Paul: APS Press, 1988. p. 79-88.
- KÖLLER, W., SCHEINPFLUG, H. Fungal resistance to sterol biosynthesis inhibitors: a new challenge. *Plant Disease*, v.71, n.12, p.1066-1074, 1987.

- KÖLLER, W., WUBBEN, J.P. Variable resistance factors of fungicides acting as sterol demethylation inhibitors. *Pesticide Science*, v.26, p.133-145, 1989.
- KOOISTRA, E. Powdery mildew resistance in cucumber. *Euphytica*, v.17, p.236-244, 1968.
- KUROZAWA, C., PAVAN, M.A. Doenças das cucurbitáceas (abóbora, abobrinha, chuchu, melancia, melão, moranga, pepino). In: KIMATI, H., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A., REZENDE, J.A.M. (Eds.) *Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas*. 3.ed. v. 2. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1997. p.325-337.
- LEROUX, P. Negative cross-resistance in fungicides: from the laboratory to the field. In: DENHOLM, I., DEVONSHIRE, A.L., HOLLOMON, D.W. (Eds.) *Resistance '91: achievements and developments in combating pesticide resistance*. London: Elsevier Applied Science, 1992. p.179-189.
- MALATHRAKIS, N.E. Occurrence of decreased sensitivity of *Sphaerotheca fuliginea* to ditalimfos. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, v.91, p.249-251, 1985.
- McGRATH, M.T. Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: occurrence, impact, and management. In: *PROCEEDINGS OF FIRST INTERNATIONAL POWDERY MILDEW CONFERENCE*, Avignon. Avignon, p.31-32. 1999. (Abstracts)

McGRATH, M.T. Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew:experiences and challenges.

Plant Disease, v.85, pl236-245, 2001.

McGRATH, M.T. Increased resistance to triadimefon and to benomyl in *Sphaerotheca fuliginea*

populations following fungicide usage over one season. Plant Disease, v.80, p.633-639, 1996.

McGRATH, M.T., STANISZEWSKA, H., SHISHKOFF, N., CASELLA, G. Fungicide sensitivity

of *Sphaerotheca fuliginea* populations in the United States. Plant Disease, v.80, p.697-703,

1996.

NETZER, D., DISHON, I. Effect of mode of application of benomyl on control of *Sclerotinia*

*sclerotiorum* on muskmelons. Plant Disease Reporter, v.54, n.10, p.909-912, 1970.

O'BRIEN, R.G. Fungicide resistance in populations of cucurbit powdery mildew (*Sphaerotheca*

*fuliginea*). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, v.22, p.145-149, 1994.

PAULUS, A.O., SHIBUYA, F., OSGOOD, J., BOHN, G.W., HALL, B.J., WHITAKER, T.W.

Control of powdery mildew of cucurbits with systemic and nonsystemic fungicides. Plant Disease

Reporter, v.53, n.10, p.813-816, 1969.

- PEEVER, T.L., MILGROOM, M.G. Lack of correlation between fitness and resistance to sterol biosynthesis-inhibiting fungicides in *Pyrenophora teres*. *Phytopathology*, v.84, p.515-519, 1994.
- PETERSON, R.A. Field resistance to benomyl in cucurbit powdery mildew. *Australian Plant Pathology Society Newsletter*, v.2, p.27-28, 1973.
- PETSIKOS-PANAYOTAROU, N. Isolation of a benomyl-resistant strain of *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht.) Poll. in Greece and the effectiveness of other systemic fungicides. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, v.83, n.1. p.229-234, 1977.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B., BOITEUX, L.S., OCCHIENA, E.M. Powdery mildew of melon (*Cucumis melo*) caused by *Sphaerotheca fuliginea* in Brazil. *Plant Disease*, v.69, p.1069-1070, 1985.
- SCHEPERS, H.T.A.M. Changes during a three-year period in the sensitivity to ergosterol biosynthesis inhibitors of *Sphaerotheca fuliginea* in the Netherlands. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, v.91, p.105-118, 1985a.
- SCHEPERS, H.T.A.M. Consequences of resistance to fungicides for the control of cucumber powdery mildew. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*, v.49, n.2, p.139-141, 1984a.

SCHEPERS, H.T.A.M. Decreased sensitivity of *Sphaerotheca fuliginea* to fungicides which inhibit ergosterol biosynthesis. Netherlands Journal of Plant Pathology, v.89, p.185-187, 1983.

SCHEPERS, H.T.A.M. Persistence of resistance to fungicides in *Sphaerotheca fuliginea*. Netherlands Journal of Plant Pathology, v.90, p.165-171, 1984b.

SCHEPERS, H.T.A.M. Resistance to inhibitors of sterol biosynthesis in cucumber powdery mildew. British Crop Protection Conference- Pests and Diseases, p.495-496, 1984c.

SCHEPERS, H.T.A.M. Fitness of isolates of *Sphaerotheca fuliginea* resistant or sensitive to fungicides which inhibit ergosterol biosynthesis. Netherlands Journal of Plant Pathology, v.91, p.65-76, 1985b.

SCHROEDER, W.T., PROVVIDENTI, R. Resistance to benomyl in powdery mildew of cucurbits. Plant Disease Reporter, v.53, p.271-275, 1969.

SCHROEDER, W.T., PROVVIDENTI, R. Systemic control of powdery mildew on cucurbits with fungicide 1991 applied as soil drenches and seed treatments. Plant Disease Reporter, v.52, p.630-632, 1968.

SITTERLY, W.R. The powdery mildews of cucurbits. In: SPENCER, D. (Ed.) The powdery mildews. London: Academic Press, 1978. p.359-379.



SPALDING, D.H. Resistance of mango pathogens to fungicides used to control postharvest diseases. *Plant Disease*, v.66, n.12, p.1185-1186, 1982.

STADNIK, M.J., KOBORI, R.F., BETTIOL, W. Oídios de cucurbitáceas. In: STADNIK, M.J., RIVERA, M.C. (Eds.) Oídios. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. p.217-254.

STADNIK, M.J., RIVERA, M.C. (Eds.) Oídios. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. 484p.

WADE, M. Resistance to fungicides. *Span*, v.25, n.1, p.8-10, 1982.

WOLFE, M.S. Dynamics of the response of barley mildew to the use of sterol synthesis inhibitors. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, v.15, p.451-457, 1985.

WOLFE, M.S., MINCHIN, P.N., SLATER, S.E. Dynamics of triazole sensitivity in barley mildew, nationally and locally. *Proceedings 1984 British Crop Protection Conference. - Pests and Diseases*, v.2, p.465-470, 1984.

ZAMBOLIM, L., DO VALE, F.X.R., COSTA, H. Controle Integrado das doenças de hortaliças. Viçosa, 1997. 134p.