

SENSIBILIDADE DE *VENTURIA INAEQUALIS* AO MICLOBUTANIL

WOLFF, C. M.¹; VALDEBENITO SANHUEZA, R. M.²

¹Eng^a Agr^a, CNPUV, CP 1345, 95200-000, Vacaria, RS, camila_cmw@hotmail.com; ²Eng^a Agr^a. Dr^a., CNPUV, CP130, 95700-000, rosa@cnpuv.embrapa.br

Introdução

O sistema de Produção Integrada de Maçã (PIM) limita o uso de pesticidas de alto risco para selecionar estirpes resistentes estabelecendo limites ao número de pulverizações que o produtor pode fazer por ciclo para o controle de determinado patógeno. Esta informação consta nas Normas Técnicas Específicas da PIM e, no caso dos fungicidas inibidores da síntese do ergosterol (IBE) são permitidas até 6 pulverizações para o controle da sarna da macieira (*Venturia inaequalis*), sendo excepcionalmente liberado o uso de tratamentos adicionais. A ocorrência, caracterização e manejo da resistência de *V. inaequalis* a este grupo de fungicidas tem sido relatada no Brasil e em outros países produtores de maçãs (DELP et al., 1988, ERRAMPALLI, 2004; GHINI; KIMATI, 2000). O fungicida miclobutanil, do grupo dos IBE, é utilizado para o controle de *Venturia inaequalis* na macieira, sendo que a dose inibitória de 50% do crescimento micelial é de 0,07 ppm para isolados selvagens (ERRAMPALLI, 2004). Quando usada a dose discriminatória de 0,1 ppm, Koller et al. (1997) consideram que haverá risco de perda de controle naqueles pomares nos que se constata o tamanho das colônias desenvolvidas em meio de cultura com fungicida e próxima ao constatado sem fungicida (crescimento relativo superior a 80%). O objetivo do trabalho foi determinar a sensibilidade ao fungicida miclobutanil “in vitro” de isolados de *Venturia inaequalis* coletados em pomares de diferentes regiões produtoras de maçãs e determinar a produção de conídios e o crescimento de isolados resistentes em meio de cultura sem fungicida.

Material e Métodos

Foram utilizados 63 isolados de *V. inaequalis*, coletados no ciclo 2005-2006 e provenientes de 6 locais: Fraiburgo (SC), Cambará (RS), Vacaria (RS), São Francisco de Paula (RS), Monte Alegre dos Campos (RS) e São Joaquim (SC). As estirpes foram preservadas em

placas de Petri com meio BDA-Extrato de Levedura (batata, 74 g; dextrose, 10 g; agar, 34 g e extrato de levedura, 6 g.L⁻¹).

Para instalação do experimento foi preparado meio de cultura BDA (batata, 200; dextrose, 10; agar, 18 g.L⁻¹) sem fungicida e com a dose discriminatória de 0,4 ppm de miclobutanil, representado pelo Systhane (Dow Agrosiences). Na instalação do experimento foi retirado um disco do BDA (0,85 cm x 0,85 cm) e substituído por outro de igual tamanho colonizado pelo fungo. As placas foram incubadas a 20°C e fotoperíodo de 12 h. As avaliações de diâmetro das colônias ocorreram no 5º, 9º, 13º, 17º e 21º dia de crescimento. Foram utilizadas duas repetições por isolado e meio de cultura

Para determinação da inibição do desenvolvimento da colônia foi usada a fórmula citada por Errampalli (2004): Inibição = $[(\text{Tamanho no BDA} - \text{Tamanho no BDA} + \text{Fungicida}) / \text{Tamanho no BDA}] \times 100$ e o crescimento relativo (CR) citado por Koller et al. (1997) que consiste no tamanho da colônia no BDA + Fungicida / Tamanho no BDA $\times 100$. O diâmetro das colônias foi medido com paquímetro digital, no sentido horizontal e vertical.

Os fatores de competitividade de 5 isolados com e sem inibição (colônias que tiveram as maiores inibições (25 a 50%) e colônias em que a inibição foi menor do que 1%) foram comparados. Estes fatores foram a taxa de crescimento e a produção de conídios. A contagem de conídios foi realizada no 25º dia de desenvolvimento da colônia usando hemacitômetro.

Resultados e Discussão

A sensibilidade de isolados de *V. inaequalis* foi variável dependendo do pomar de origem não se detectando isolados com inibição do tamanho das colônias superior a 50%, como ocorreria com isolados selvagens (Tabela 1). No pomar Fraiburgo 1, foi observada alta frequência (73%) de isolados com baixa inibição do crescimento das colônias (Fig. 1). Os dados referentes ao tamanho das colônias de isolados com e sem inibição pelo miclobutanil mostraram que os isolados mais sensíveis apresentaram colônias maiores em meio de cultura (teste T ($p < 0,05$), mas a quantidade de conídios nos dois grupos não apresentou diferenças significativas (Tabela 2).

Isolados com alta resistência são aqueles com crescimento relativo de isolados (CR) igual ou maior a 80% quando avaliados em meio de cultura com 0,1 ppm de miclobutanil. Isolados com este CR acarretarão perda de controle de 27% (KOLLER et al., 1997). Contudo, os autores antes citados mostraram que, visto que a resistência aos IBE é de tipo contínuo quando a

freqüência de isolados com CR>80% é maior de 43%, haverá perda de controle nos pomares comerciais. Os dados obtidos mesmo que com número pequeno de isolados nos pomares, sugerem que sinais de ocorrência de resistência são claros no caso dos pomares avaliados, visto que neste trabalho a freqüência de isolados resistentes (CR>80%) é alta mesmo usando 0,4 ppm como dose discriminatória (Tabela 1). Assim, poderá haver perda de controle da doença nos quando as condições sejam propícias á doença nos pomares Fraiburgo 1, Vacaria 1, 2, 3 e 4, Monte Alegre dos Campos, Cambará e São Francisco de Paula e o risco será somente menos grave nos outros pomares avaliados.

Os dados obtidos reforçam a validade da exigência da PIM para restringir o uso de fungicidas IBE à exigência de uso em misturas com fungicidas eficazes e com diferente modo de ação no patógeno e a limitação do número de pulverizações por ciclo atendendo as recomendações do Comité de ações para estudo da resistência de patógenos aos fungicidas (FRAC).

Tabela 1. Freqüência de isolados de *Venturia inaequalis* com sensibilidade variável ao miclobutanil em meio de cultura com 0,4 ppm do fungicida¹.

| Locais | Nº de isolados avaliados | Nº de isolados com inibição maior a 10% | Nº de isolados com inibição menor a 5% | Crescimento relativo ² dos isolados de cada pomar (%) | Freqüência (%) de isolados com crescimento relativo >80% |
|-------------------------|--------------------------|---|--|--|--|
| Fraiburgo 1 | 15 | 4 | 11 | 100,00 | 93 |
| Vacaria 1 | 5 | 3 | 2 | 100,00 | 60 |
| Vacaria 2 | 6 | 5 | 1 | 82,90 | 66 |
| Vacaria 3 | 4 | 0 | 4 | 100,00 | 100 |
| São Joaquim 1 | 6 | 5 | 1 | 79,68 | 33 |
| São Joaquim 2 | 3 | 3 | 0 | 74,53 | 66 |
| São Joaquim 3 | 4 | 4 | 0 | 77,72 | 75 |
| Monte Alegre dos Campos | 6 | 2 | 4 | 100,00 | 83 |
| Cambará | 4 | 1 | 3 | 93,94 | 75 |
| São Francisco de Paula | 4 | 2 | 2 | 91,50 | 75 |

¹Média de duas repetições por isolado.

²Inibição = $([\text{Tamanho no BDA} - \text{Tamanho no BDA} + \text{Fungicida}/\text{Tamanho no BDA}] \times 100)$; Crescimento relativo (CR): $(\text{tamanho da colônia no BDA} + \text{Fungicida}/\text{Tamanho no BDA}) \times 100$.

Tabela 2. Características de isolados de *Venturia inaequalis* sensíveis e resistentes ao miclobutanil.

| Isolados | Inibição em BDA com miclobutanil | Tamanho das colônias após 21 dia em BDA | Nº de conídios após 21 dia em BDA |
|--------------------|----------------------------------|---|-----------------------------------|
| Resistentes | | | |
| 1. Fraiburgo 7 | 0 | 17,8 | $2,5 \times 10^5$ |
| 2. Fraiburgo 8 | 0 | 14,59 | $<10^5$ |
| 3. Fraiburgo 9 | 0 | 15,09 | $<10^5$ |
| 4. Vacaria 20 | 0 | 9,5 | $<10^5$ |
| 5. Vacaria 21 | 0 | 14,19 | $0,5 \times 10^5$ |
| Média | | 14,23* | |
| Sensíveis | | | |
| 1. São Joaquim 34 | 33,3 | 18,49 | 1×10^5 |
| 2. São Joaquim 37 | 38,2 | 17,79 | 2×10^5 |
| 3. São Joaquim 42 | 18,7 | 17,63 | $<10^5$ |
| 4. Vacaria 53 | 19,7 | 16,47 | 1×10^5 |
| 5. Vacaria 54 | 13,4 | 19,97 | $<10^5$ |
| Média | | 18,07 | |

¹ Média de duas repetições por isolado.

* diferença entre o tamanho dos dois grupos conforme teste T ($p < 0,05$).

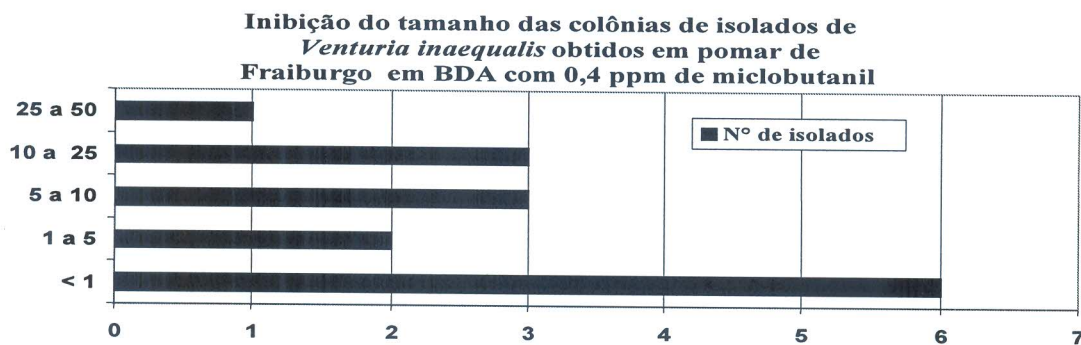


Figura 1. Frequência de isolados sensíveis (inibição > 25%) e resistentes (inibição < 25%) de *Venturia inaequalis* obtidos de um pomar de Fraiburgo.

Conclusão

Há alta frequência de isolados de *Venturia inaequalis* com características de resistência ao fungicida miclobutanil nas três principais regiões produtoras de maçãs no sul do país.

Referências Bibliográficas

DELP, C. J.; DELP, B. R.; FORT, T. M.; MORTON, H. V.; SMITH, C. M. Fungicide Resistance in North America. In: FORTH, T. M. (Ed.). **Demethylathion Inhibitor (DMI) Fungicides**. Minnesota: The American Phytopathological Society, 1988. 77 p.

ERRAMPALLI, D. Distribution of myclobutanil fungicide sensitivities among populations of *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab, in Ontario. **Acta Horticulturae**, v. 638, p. 157-162, 2004. Trabalho publicado no XXVI INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS, 2004 intitulado Sustainability of Horticultural Systems in the 21st Century.

GHINI, R; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78 p.

KOLLER, W.; WILCOX, W. F. Evaluation of Tactics for Managing Resistance of *Venturia inaequalis* to Sterol Demethylation Inhibitors. **Plant Disease**, New York, v. 83, p. 857-853, 1999.

KOLLER, W.; WILCOX, W. F.; BARNARD, J.; JONES, A. L.; BRAUN, P. G. Detection and quantification of *Venturia inaequalis* populations to sterol demethylation inhibitors. **Phytopathology**, v. 87, p. 184-190, 1997.