



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Lasiodiplodia theobromae* DE MAMOEIROS DO
NORDESTE BRASILEIRO A TIOFANATO METÁLICO**

Rômulo Diniz Cavalcante

**RECIFE – PE
2013**

RÔMULO DINIZ CAVALCANTE

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Lasiodiplodia theobromae* DE MAMOEIROS DO
NORDESTE BRASILEIRO A TIOFANATO METÁLICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE) – Orientador

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE) – Coorientador

Prof. Dr. Ricardo Brainer Martins (UFAL) – Coorientador

**RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2013**

Ficha catalográfica

C376s Cavalcante, Rômulo Diniz
Sensibilidade de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* de mamoeiros do nordeste brasileiro a tiofanato metílico / Rômulo Diniz Cavalcante. – Recife, 2013.
52 f. : il.

Orientador: Marcos Paz Saraiva Câmara.
Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Recife, 2013.

Referências.

1. Resistência a fungicidas 2. *Carica papaya* 3. Podridão peduncular 4. Botryosphaeriaceae 5. Adaptabilidade
I. Câmara, Marcos Paz Saraiva, orientador II. Título

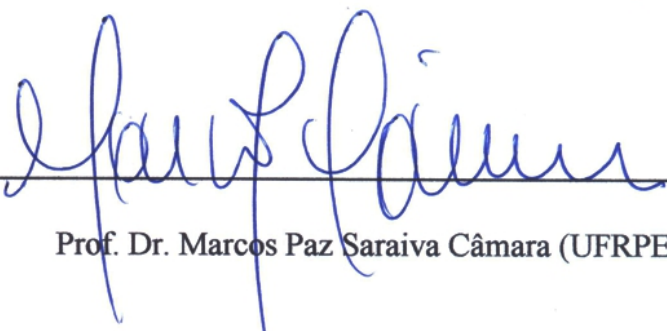
CDD 632

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Lasiodiplodia theobromae* DE MAMOEIROS
DO NORDESTE BRASILEIRO A TIOFANATO METÁLICO**

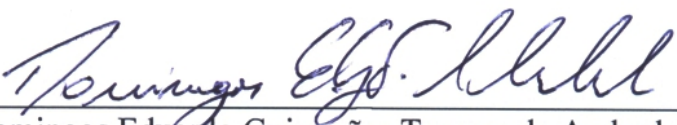
RÔMULO DINIZ CAVALCANTE

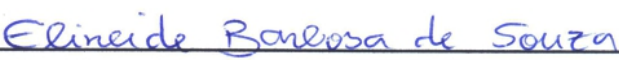
Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 25/02/2013

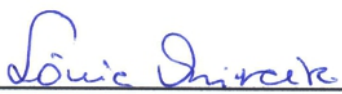
ORIENTADOR:


Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE)

EXAMINADORES:


Dr. Domingos Eduardo Guimarães Tavares de Andrade


Profª. Dra. Elineide Barbosa de Souza (UFRPE)


Profª. Dra. Sônia Maria Alves de Oliveira (UFRPE)

**RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2013**

A Deus.

AGRADEÇO

A minha família, meus pais Antônio Carlos e Aldenôra, minha namorada Raquel e aos meus irmãos Renato e Roberta.

DEDICO

Ofereço aos meus amigos e todos que me apoiaram nessa conquista

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por ter me dado forças e iluminando meu caminho para que pudesse concluir mais uma etapa da minha vida, aos meus pais Antonio Carlos e Aldenôra, aos meus irmãos Renato e Roberta, a minha namorada Raquel, minha segunda mãe Fernanda e todos os meus familiares em São Luis e Fortaleza que muito me apoiaram e acreditaram na minha capacidade e que abriram mão de muitas coisas para me proporcionar a realização deste trabalho;

Ao professor Dr. Marcos Câmara pela orientação, amizade e momentos de descontração no laboratório de micologia;

Ao professor Dr. Sami Michereff pela orientação, amizade e paciência;

Ao professor Dr. Ricardo Brainer pelo treinamento e estar sempre disposto ao esclarecimento de dúvidas;

Ao Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pelo apoio institucional e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da UFRPE pelos ensinamentos transmitidos;

Sinceros agradecimentos à Dra. Waléria Guerreiro, Nelson Bernardi, Mayumi Inokuti e Mariote Netto pela grande amizade, carinho e atenção que sempre tiveram comigo;

A todos os amigos que fiz durante esses dois anos, em especial para Adelmo, André Ângelo, Adriana, Ana Paula, Bárbara, Carine, Catarina, Conrado, Cristiane Lima, Douglas Castro, Eduardo, Elizabeth, Etiane, Eufrásio, João Victor, José Maria, Kamila, Katia Félix, Leonardo, Lilian, Luis Gustavo, Marco Aurélio, Marcondes, Marcelo Bezerra, Marília Marques, Mateus, Moara Bandeira, Natália Monique, Susan Tsuji, Willie Anderson e Wilson;

Aos funcionários Darcy Martins e Romildo Angeiras pela colaboração;

Por fim, a todos que de alguma forma fizeram parte desta conquista.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	v
RESUMO GERAL	vii
GENERAL ABSTRACT	viii
CAPÍTULO I – Introdução Geral	10
Referências Bibliográficas	23
CAPÍTULO II – Sensibilidade de isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> de mamoeiros do Nordeste brasileiro a tiofanato metílico	31
Resumo	33
Abstract	33
Introdução	34
Materiais e métodos	36
Resultados	40
Discussão	41
Referências	44
CONCLUSÕES GERAIS	51

RESUMO GERAL

A podridão peduncular causada por *Lasiodiplodia theobromae* é uma doença em pós-colheita importante na cultura do mamoeiro no Brasil. Os sintomas da doença iniciam na região do pedúnculo e então progride para todo o fruto. Os tecidos permanecem com aspecto encharcado e com a progressão dos sintomas, as lesões se tornam marrom escura e deprimida. A área infectada torna-se gradualmente desprovida de tecido parenquimatoso e os frutos perdem sua consistência e vigor. É recomendado que o controle da doença seja iniciado no campo e continue até a fase de comercialização, uma vez que os sintomas são difíceis de serem percebidos até um estágio avançado de maturação. O uso de fungicidas é uma das principais medidas de manejo da doença. Todavia, dados sobre a sensibilidade de *L. theobromae* a tiofanato metílico, fungicida comumente empregado em pomares de mamoeiros no Nordeste brasileiro são inexistentes. Sendo assim, a CE_{50} de 109 isolados do fungo, representando cinco populações do patógeno foi estimada *in vitro* para o fungicida. Dos 109 isolados, 20,2% foram não sensíveis (NS) ao fungicida com valores de CE_{50} superiores a 300 $\mu\text{g ml}^{-1}$, para 79,8% dos isolados remanescente denominados de sensíveis (S), a média de CE_{50} foi 1,87 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Os valores da CE_{50} dos isolados NS foram significativamente ($P \leq 0.05$) superiores quando comparados com os isolados S. Sete componentes de adaptabilidade foram mensurados para os 10 isolados com menores e maiores valores de CE_{50} . Quando foram avaliados os componentes de adaptabilidade, os isolados não sensíveis apresentaram capacidade de esporulação significativamente inferior aos isolados sensíveis, indicando um custo de adaptabilidade.

Palavras-chave: resistência a fungicida, *Carica papaya*, podridão peduncular Botryosphaeriaceae, adaptabilidade.

GENERAL ABSTRACT

Stem rot caused by *Lasiodiplodia theobromae* is an important postharvest disease of papaya in Brazil. The disease symptoms start on the stem region and then progressing around the fruit. The tissues remain with soaked aspect and with progression of symptoms, lesions become dark brown and depressed. The infected area becomes gradually devoid of parenchymal tissue and fruits lose their consistency and strength. It is recommended that the disease control starts in the field and continue until the commercialization phase since the symptoms are difficult to be perceived until an advanced stage of maturation. The use of Fungicides is one of the main disease management measures. However, there are no data available on the sensitivity of *L. theobromae* to thiophanate methyl, the most common fungicide used in papaya orchards in Northeastern Brazil. Thus, the EC₅₀ of 109 isolates of the fungus, representing five populations of the pathogen was estimated *in vitro* for the fungicide. Of the 109 isolates, 20,2% were non-sensitive (NS) to the fungicide with EC₅₀ values greater than 300 mg ml⁻¹, for the remaining 79.8% sensitive (S) isolates the average EC₅₀ was 1.87 µg ml⁻¹. The EC₅₀ values for the NS isolates were significantly (P≤0.05) higher than those for the sensitive isolates. Seven components of fitness were measured for the 10 isolates with lower and high values of EC₅₀. When the fitness components were evaluated, the non-sensitive (NS) isolates showed sporulation capacity significantly lower than the sensitive isolates, indicating a fitness costs.

Keywords: fungicide resistance, *Carica papaya*, stem rot, Botryosphaeriaceae, fitness.

Capítulo I

Introdução Geral

SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Lasiodiplodia theobromae* DE MAMOEIROS DO NORDESTE BRASILEIRO A TIOFANATO METÁLICO

INTRODUÇÃO GERAL

A cultura do mamoeiro (*Carica papaya* L.)

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) pertence à família botânica Caricaceae, que possui seis gêneros com 35 espécies. É a espécie mais importante, com seu centro de diversidade localizado na Bacia Amazônica Superior (PEREIRA; CARNEIRO; ANDRADE, 2009); por isso caracteriza-se o mamoeiro como uma planta tipicamente tropical (MENDONÇA; MEDEIROS, 2011). As regiões de cultivo devem possuir temperaturas ótimas variando de 22 a 26 °C ideais para o crescimento da planta, e temperaturas acima de 30 °C influenciam a taxa de desenvolvimento dos frutos (DANTAS; CASTRO NETO, 2000).

As flores do mamoeiro podem ser de três tipos: flores hermafroditas, flores femininas ou pistiladas, flores masculinas ou estaminadas (MARIN, 2004). O fruto de valor comercial se origina de uma flor hermafrodita, que dará origem a um fruto do tipo alongada; outros tipos de frutos podem ser formados de acordo com o tipo de flor, tais como, piriforme, arredondado, oblongo e cilíndrico. O fruto possui polpa de coloração amarela avermelhada com espessura de 2,5 a 5 cm e pode atingir até 50 cm de comprimento e pesar em alguns casos até 10 quilos (DANTAS; CASTRO NETO, 2000).

O fruto pode ser consumido *in natura*, possuindo um sabor agradável e nutrientes prontamente disponíveis à digestão e seu valor nutricional tem relação com os teores de açúcares, pró-vitamina A e vitamina C; também se observam propriedades associadas a capacidade laxante (ARAÚJO FILHO et al., 2002). Do fruto ainda pode-se extrair a papaína, uma enzima proteolítica utilizada na indústria de medicamentos e alimentícia, bem como a partir do fruto produzir geleia, polpa, suco concentrado e néctar (FARIAS et al., 1998).

No Brasil o cultivo do mamoeiro ocorre utilizando-se populações ginóico-andromonóicas. As principais variedades pertencem ao grupo “Solo” e híbridos do grupo “Formosa” (DANTAS, 2000; JACOMINO; BRON; KLUGE, 2003). A variedade “Sunrise Solo” pertencente ao grupo “Solo” é amplamente cultivada no Brasil, foi introduzida no país a partir de 1977 nas regiões noroeste do Pará, norte do Espírito Santo e sul da Bahia e é o resultado do cruzamento do mamoeiro “*Pink Solo*” com a linhagem *Kariya Solo* de polpa amarela, obtido em 1961. Esta variedade é precoce onde os frutos pesam em média 490 g.

Possui polpa vermelho-alaranjado, casca lisa e firme, cavidade interna estrelada, teor de sólidos solúveis totais variando de 11 a 14 °Brix, o fruto possui formato piriforme originário de plantas hermafroditas e formato arredondado proveniente de plantas feminina. A floração inicia com três a quatro meses de idade, e o início da produção ocorre a partir do nono ao 10º mês após o plantio. Produz em média 45 toneladas/hectare/ano (DANTAS, 2000; MARIN, 2004).

Dentro do grupo “Formosa” o híbrido “Tainung nº 1” é uma planta procedente da Estação Experimental de Fengshan, Formosa, originária do cruzamento de “Sunrise Solo” com um tipo de mamoeiro da Costa Rica. Os frutos pesam de 900 a 1.100 gramas, tem ótimo sabor e boa durabilidade, resistência ao transporte e pouca resistência ao frio. A polpa possui coloração vermelho-alaranjada. A produção média é de 80 a 120 toneladas/hectare/ano, e é um fruto de grande aceitação no mercado interno (COSTA; PACOVA, 2003; MARIN, 2004).

A colheita do mamão é manual ou mecânica, sendo esta realizada antes da sua total maturação, uma vez que para a comercialização e consumo local, deve-se colher os frutos quando apresentarem estrias ou faixas com 50% de coloração amarela (DANTAS; CASTRO NETO, 2000). Na exportação para os Estados Unidos, só é aceito até o estágio de maturação 2 (até 25% da superfície amarela) e para a Europa, até o estágio 4 (50% a 75% da superfície amarela) (MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL, 2000).

Atualmente, o Brasil passou a ocupar a segunda posição no ranking mundial de produção de mamão, com 17% do volume global sendo superado apenas pela Índia. Apesar disso, a venda externa não representa 2% do volume total colhido no país. No ano de 2011 atingiram valores próximos a 29 mil toneladas, sendo esta produção destinada principalmente à União Europeia. Os lucros alcançados chegam a cifras próximas a US\$ 39 milhões (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2012).

De acordo com dados do IBGE, no ano de 2011, a produção nacional de mamão foi de 1 milhão 855 mil toneladas. O estado da Bahia se destacou como maior produtor, atingindo uma produção de 928.035 mil toneladas de mamão, representando 50% da produção nacional; em segundo lugar encontra-se o estado do Espírito Santo com produção total de 560.576 mil toneladas, neste ponto a produção de mamão corresponde a 90,9% da produção total da região Sudeste (616.218 mil toneladas); em seguida destacam-se os estados do Ceará (112.579 mil toneladas), do Grande do Norte (69.410 mil toneladas), e de Minas Gerais (44.948 mil toneladas); e o estado de Pernambuco ocupa a décima primeira posição no ranking nacional de produção de mamão, alcançando uma produção de 9.666 mil toneladas do fruto (IBGE, 2011).

Nos últimos 12 anos, o Brasil registrou um aumento de mais de 600% nas exportações de mamão (FAO, 2012). Em função desse avanço, tem havido significativos investimentos em práticas que visem a melhoria da qualidade do fruto para suprir as exigências dos países importadores, principalmente no que se refere à sanidade e presença de produtos residuais. O rigor na qualidade e na sanidade dos frutos imposto pelo mercado externo ocorre em função da maior parte desses serem reservados ao consumo *in natura*. Além disso, qualquer anormalidade, especialmente lesões causadas por patógenos, implica em inadequação ao mercado (RITZINGER; SOUZA, 2000).

O mamoeiro é afetado por vários patógenos, ocasionando as doenças que podem afetar folhas, ramos, raízes, flores, e frutos em diferentes estádios fisiológicos do seu desenvolvimento. As doenças de origem fúngica são bastante importantes nas principais áreas produtoras de mamão (OLIVEIRA et al., 2000). Segundo Silva et al. (2007) entre as principais doenças causadas por fungos são a podridão peduncular (complexo de fungos), a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.), a podridão do pé e dos frutos (*Phytophthora palmivora* (E.J. Butler) E.J. Butler), o oídio (*Oidium caricae* F. Noack), e a varíola (*Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl.).

Podridão peduncular

Existem diversos fatores que podem provocar perdas em pós-colheita na cultura do mamoeiro, dentre elas podemos citar as doenças, e destacam-se as podridões pedunculares que acarretam importantes perdas na fase de comercialização (OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2004). Essas podridões pedunculares são resultados da colonização do tecido do fruto na região do pedúnculo e nela sobrevivem sintomas de podridão. A doença é resultante da infecção e colonização de um complexo de fungos (*Lasiodiplodia* sp., *Phomopsis* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., e *Phoma* sp.) após a penetração através do pedúnculo cortado, sendo *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., um dos principais agentes etiológicos (SUZUKI; ZAMBOLIM; LIBERATO, 2007).

Normalmente, as perdas provocadas em função do surgimento de podridões na fase de pós-colheita dos frutos são devido a infecções procedentes do campo, pois os patógenos apresentam a característica de se estabelecerem no fruto imaturo e permanecem em estado quiescente, não havendo o aparecimento de sintomas, manifestando-se somente após a colheita sob condições ambientais favoráveis e amadurecimento do fruto (BARBOSA, 2006; MONTEIRO et al., 2009; OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2004).

Nos frutos do mamoeiro em pós-colheita o fungo *L. theobromae* provoca lesões escuras com uma ampla margem de tecido encharcado e forma uma superfície rugosa devido a formação de picnídios. O fungo cresce rapidamente causando o apodrecimento dos frutos (REZENDE; FANCELLI, 1997).

Em condições de campo *L. theobromae* provoca uma doença conhecida como podridão-da-haste do mamoeiro. A doença recebe essa denominação em virtude da localização da lesão induzida pelo patógeno na planta, embora o fungo possa infectar o pecíolo, a folha, o pedúnculo e o fruto. Os sintomas iniciais ocorrem com o surgimento de uma lesão pequena, encharcada, de coloração verde escura, circundando parcialmente a região de inserção do pecíolo ou pedúnculo; em seguida ocorre o aumento da lesão encharcada que posteriormente avança nos tecidos da haste, enquanto o ponto inicial da lesão torna-se mais escuro e depois negro, e por último ocorre à murcha e o apodrecimento da haste causando a morte da planta rapidamente (VIANA et al., 2007).

A espécie *Lasiodiplodia theobromae*

O fungo *L. theobromae* é cosmopolita, polífago e oportunista, com pouca especialização patogênica e, até recentemente, era considerado um patógeno ocasional de plantas estressadas e submetidas a ferimentos naturais ou provocados por insetos, pássaros, primatas nativos e pelo próprio homem, através de práticas culturais (PEREIRA; SILVA; RIBEIRO, 2006). Porém o fungo vem afetando nos últimos anos importantes culturas tais como, mangueira (*Mangifera indica* L.), cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), coqueiro (*Cocos nucifera* L.), cajazeiro (*Spondias* spp.), abacateiro (*Persea americana* Mill.), citros (*Citrus* spp.), e goiabeira (*Psidium guajava* L.). Entretanto, essas não são as únicas espécies afetadas pelo patógeno, que apresenta uma gama de mais de 500 hospedeiros já catalogados nas regiões tropicais e temperadas do mundo (ALVES et al., 2008; FREIRE et al., 2004).

L. theobromae forma colônia acinzentada a negra em BDA (Batata-Dextrose-Ágar) com abundante micélio aéreo. Produz picnídios simples ou compostos, geralmente agregados, estromáticos, ostiolados, subovóides a elipsóides-oblongos (RODRIGUES, 2003). Forma paráfises hialinas, septadas ocasionalmente ramificadas e arredonda nas extremidades com até 55 µm de comprimento e 3-4 µm de largura. A célula conidiogênica é do tipo holoblástica, proliferando de maneira percurrente para formar uma ou duas anelações. Os conídios variam de subovóide a elipsóide ovoide, inicialmente os conídios são hialinos e asseptados, permanecendo hialino por um longo tempo, finalmente torna-se marrom escuro e com um

septo, havendo depósito de melanina na superfície interna da parede, dispostas longitudinalmente, dando aparência estriada aos conídios (ALVES et al., 2008).

Em campo, as condições de alta umidade facilitam a liberação dos esporos, os quais são facilmente dispersos por respingos de água da chuva ou de irrigação (ÚRBEZ-TORRES et al., 2008), vento, sementes, insetos, animais silvestres e o homem, através de instrumentos agrícolas também facilitam a disseminação do fungo (CARDOSO; FREIRE, 2002).

Alguns estudos demonstram que desenvolvimento de *L. theobromae* ocorre em uma faixa de temperatura que varia de 4 a 36 °C, sendo que o crescimento ótimo ocorre a 28 °C; as temperaturas maiores que 40 °C inibem o desenvolvimento do fungo (ENG; GUTIÉRREZ-ROJAS; FAVELA-TORRES, 2003; SAHA et al., 2008). A temperatura em torno de 30 °C favorece uma maior germinação dos conídios e temperaturas inferiores a 15 °C ou superiores a 40 °C inibem a germinação (MORTUZA; ILAG, 1995). Altas temperaturas de 35 °C a 40 °C favorecem a produção de picnídios (BATISTA et al., 2010; KHANZADA; RAJPUT; SHAHZAD, 2006).

Manejo da podridão peduncular

De acordo com Benato et al. (2001), vários métodos de controle são utilizados de forma única ou integrada, para suprimir doenças de frutas em pós-colheita. Esses métodos são baseados em estratégias que visam três objetivos práticos: i) reduzir o potencial de inóculo, ii) supressão do desenvolvimento das podridões, e iii) prevenção e erradicação (ECKERT; OGAWA, 1985; OLIVEIRA; TAVARES; DANTAS, 2001; SENHOR et al., 2009).

Para o controle da podridão peduncular do mamão, é recomendado que o controle seja iniciado no campo de produção indo até a fase de comercialização, pois é uma doença em que os sintomas são difíceis de serem percebidos até a fase avançada de maturação (NERY-SILVA et al., 2001; OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2004). É importante evitar ferimentos e danos mecânicos nos frutos, eliminar restos de cultura contaminados e realizar pulverizações com fungicidas. Para o tratamento em pós-colheita é realizado a imersão dos frutos em água quente (48 °C por 20 minutos) e/ou fungicidas; armazenamento dos frutos em condições que retardem ou diminuam o seu apodrecimento sem afetar sua qualidade; e a sanitização de caixas utilizadas para o transporte dos frutos (MONTEIRO et al., 2009; OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2004; OLIVEIRA; TAVARES; DANTAS, 2001).

Controle químico

Atualmente, os fungos em pós-colheita são controlados, principalmente, pela aplicação de fungicidas (BARKAI-GOLAN, 2001). Esse tipo de tratamento atua sobre patógenos em ferimentos ou sobre aqueles de infecção quiescente e possuem a grande vantagem de seu efeito residual (SENHOR et al., 2009).

Os fungicidas são essenciais para manter a sanidade, confiabilidade, e a alta qualidade dos produtos agrícolas (MA; MICHAILIDES, 2005). Eles formam um componente chave do manejo integrado, e sua efetividade deve ser mantida o tanto quanto possível (BRENT, 1995).

Existem diversos fungicidas, entre eles podemos citar os produtos com formulações a base de cobre e enxofre que ainda são amplamente utilizados e de forma eficaz. Vários fungicidas tais como, ditiocarbamatos, dinitrofenóis, clorofenóis foram utilizados continuamente por mais de 30 anos (BRENT, 1995). O modo de ação desses fungicidas é descrito como multi sitio, inibindo simultaneamente uma gama de enzimas e estruturas celulares e oferecendo uma proteção preventiva as plantas (KUCK; GISI, 2007).

Um grande número de fungicidas sistêmicos, com modo de ação específico foram introduzidos no final dos anos de 60 e 70, entre ele pode-se incluir 2-amino-pirimidinas, carboxiamidas, benzimidazóis e os primeiros inibidores da biossíntese de esterol, tais como triforina (BRENT; HOLLOMON, 2007b). Durante o final de 70 e início de 80, os fungicidas dicarboxiamidas, fenilamidas e novos inibidores da biossíntese de esterol, entre eles os primeiros triazóis entraram no mercado (KUCK; GISI, 2007). Esses fungicidas de ação específica são absorvidos pela planta e translocam pelos vasos condutores para partes da planta que não são diretamente atingidas por pulverizações (GHINI; KIMATI, 2000; KUCK; GISI, 2007).

Sabe-se que os fungicidas de ação específica agem inibindo diferentes vias biossintéticas dos patógenos, tais como síntese de ácido nucleico, mitose e divisão celular, respiração celular, síntese de aminoácidos e proteínas, síntese de lipídios, biossíntese de esterol na membrana, biossíntese da parede celular, e síntese de melanina na parede celular (FRAC, 2012a).

Entre os produtos com atividade sistêmica destacam-se os pertencentes ao grupo metil benzimidazol carbamatos – MBC (benzimidazóis). São fungicidas efetivos contra uma gama considerável de fungos, sendo considerado um marco importante na história do desenvolvimento dos fungicidas (DELEN; TOSUN, 2004; PICININI, 1994). Os metil benzimidazóis carbamatos tem sido amplamente aplicados em vários campos de pesquisa, na

agricultura (fungicidas) e medicina veterinária e humana (drogas anti-helmínticas) (DAVIDSE, 1986).

Atualmente, os estudos mostram que o mecanismo de ação dos fungicidas MBC está baseado no seu efeito sobre a integridade das proteínas tubulinas (DAVIDSE, 1986; DAVIDSE; FLACH, 1977; RODRIGUES, 2006; STEFFENS; PELL; TIEN, 1996; YOUNG, 2007). As tubulinas são proteínas formadas de duas subunidades (α e β -tubulina), cada uma com aproximadamente 55kDa. Hélices alternadas de α e β -tubulina formam os microtúbulos. Os microtúbulos são filamentos que compõem o citoesqueleto e também são ativos na formação dos fusos mitóticos responsáveis pela separação dos cromossomos durante a divisão nuclear (RODRIGUES, 2006; YOUNG, 2007).

Sabe-se que os fungicidas MBC possuem alta afinidade pelas proteínas tubulinas, sendo assim, a ligação desse fungicida as tubulinas resulta na inibição da polimerização dos microtúbulos, conseqüentemente haverá interrupção da mitose na fase de metáfase, ocorrendo uma falha na separação do novo núcleo, o que acarretará a morte celular (DAVIDSON et al., 2006; DELEN; TOSUN, 2004; RODRIGUES, 2006).

Os MBC mostram serem ativos contra muitos dos Ascomycetes, e sobre alguns Basidiomycetes e fungos mitospóricos, entretanto, não exibe nenhuma atividade contra os Oomycetes (DAVIDSE; FLACH, 1977; DELEN; TOSUN, 2004; HOLLOMON, 2002; RODRIGUES, 2006). Os principais representantes pertencentes a esse grupo são benomil, carbendazim, fuberidazol, tiabendazol (grupo químico benzimidazol), tiofanato e tiofanato metílico (grupo químico tiofanato) (DELEN; TOSUN, 2004; FRAC, 2012b), sendo que o fungicida benomil foi retirado do mercado em 1992 (MAY-DE MIO; LUO; MICHAILIDES, 2011), fazendo com que os produtores de diversas culturas utilizem tiofanato metílico e outros MBC em substituição ao benomil.

Para a cultura do mamoeiro no Brasil são utilizados os fungicidas tiofanato metílico e tiabendazol embora, oficialmente, apenas tiabendazol seja registrado para o controle de *L. theobromae* (AGROFIT, 2012).

O tiofanato metílico quimicamente é o dimethyl 4,4'-(O-phenylene)bis(3-thiollophanate) (AGROFIT, 2012), um fungicida sistêmico amplamente utilizado devido a sua gama de atividade contra fungos fitopatogênicos (BRIGGS et al., 2002).

Com relação a sua estrutura química, é observado que os fungicidas pertencentes ao grupo químico tiofanato não apresentam um anel heterocíclico como os fungicidas pertencentes ao grupo químico benzimidazóis. Apesar disso, após muitas pesquisas verificou-se que o tiofanato metílico é um fungicida intimamente relacionado ao benomil. Tanto o

benomil quanto o tiofanato metílico são instáveis na natureza. O benomil por hidrólise e o tiofanato metílico por ciclização degradativa produzem rapidamente o carbendazim (metil 2-benzimidazol carbamato), que é o principal agente tóxico aos fungos (PICININI, 1994). Por isso, muitos pesquisadores classificam os fungicidas tiofanatos como fungicidas pertencentes ao MBC (BRIGGS et al., 2002; PICININI, 1994).

Esse fungicida tem sido utilizado para controle de diferentes doenças em diversos cultivos, entre eles podemos destacar a fusariose do abacaxizeiro, Sigatoka amarela da bananeira, cercosporiose do cafeeiro, verrugose dos citros, murcha de esclerócio do feijoeiro, sarna da macieira, antracnose da mangueira, mofo cinzento do morangueiro, pinta preta do tomateiro, e oídio do mamoeiro (AGROFIT, 2012; RODRIGUES, 2006).

O Comitê de Ação de Resistência a Fungicidas (FRAC) afirma que existe um alto risco de resistência de fungos ao fungicida tiofanato metílico e a outros MBC. É relatado que existem vários alvos de mutação, principalmente em diferentes códons no gene β -tubulina. Também é observado resistência cruzada positiva entre os membros do grupo MBC, e resistência cruzada negativa para os N-fenilcarbamatos (FRAC, 2012a).

Resistência a fungicida

Os fungicidas compõem uma parte integral da produção eficiente de alimentos. Entretanto, a efetividade desses têm sido seriamente comprometida, em algumas situações de controle, devido ao desenvolvimento da resistência em populações de fungos (AZEVEDO, 2001). Segundo Reis, Reis e Forcelini (2007), a resistência pode ser definida como um ajuste estável e hereditário de um fungo a um fungicida, que pode resultar em uma redução considerável na sensibilidade do patógeno ao composto químico, a qual pode ser total ou parcial. Assim, a resistência a fungicida pode ser adquirida por mutações nos genes do patógeno ou por aumento da frequência de sub populações que são naturalmente menos sensíveis (CAPOTE et al., 2012).

Até o ano de 1970, quase todos os fungicidas utilizados para o controle de fitopatógenos eram inibidores multi sitio atuando como protetores contra patógenos. Apesar da sua ampla utilização, a resistência a esses compostos era um evento raro. No entanto, desde a introdução dos fungicidas que inibem sítios bioquímicos específicos no final de 1960, a resistência em fungos fitopatogênicos tornou-se um problema importante na proteção de plantas (BRENT, 1995). Com a introdução e o constante uso dos fungicidas sistêmicos foi relatada a ocorrência de 64 gêneros de fungos resistentes a fungicida em condições de campo,

quantidade superior à relatada antes da introdução desses fungicidas, que era apenas de 10 gêneros de fungos (AZEVEDO, 2001; PICININI, 1994).

A seletividade e a característica de atuarem em apenas um único sítio alvo, é provavelmente o fator dominante que determina a vulnerabilidade e o grande risco de resistência ligado aos fungicidas sistêmicos (AZEVEDO, 2001; BRENT; HOLLOMON, 2007a; GHINI; KIMATI, 2000; HOLLOMON, 2002).

O desenvolvimento de resistência ocorre quando os isolados resistentes surgem a partir de uma taxa natural de mutação genética muito baixa. Esses isolados são menos afetados ou o crescimento não inibido pelo fungicida. Uma vez que o fungicida pode controlar efetivamente os isolados sensíveis, os isolados resistentes podem torna-se dominantes na população sob pressão de seleção com o uso do fungicida ao longo do tempo, por conseguinte falhas no controle da doença pode eventualmente ocorrer (MA; MICHAILIDES, 2005).

É observado que resistência a fungicidas pode ser conferida por vários mecanismos, incluindo alteração no sítio alvo; síntese de uma enzima alternativa capaz de substituir a enzima alvo; a superprodução do alvo do fungicida; um efluxo ativo ou reduzida absorção do fungicida; e uma degradação metabólica do fungicida (BRENT, 1995; BRENT; HOLLOMON, 2007b; CAPOTE et al., 2012; MA; MICHAILIDES, 2005).

Acredita-se que o mecanismo mais comum de resistência a fungicidas parece ser a alteração no sítio bioquímico alvo do fungicida, o que poderia explicar por que em muitos dos produtos chamados inibidores multi sítio foram encontrados poucos problemas de resistência, pois uma vez penetrando na célula fúngica, esses fungicidas multi sítio atuam como inibidores de enzimas gerais, afetando muitos sítios alvo. Sendo assim, muitos sítios no fungo teriam que sofrer alterações simultaneamente, com a finalidade de impedir a atuação do fungicida; a ocorrência simultânea de mutações em múltiplos genes necessárias para conferir resistência a fungicidas inibidores de multi sítios são menos prováveis (BRENT, 1995; BRENT; HOLLOMON, 2007b; DAMICONE; SMITH, 2012). Em contraste, os fungicidas modernos atuam primariamente em um único sítio alvo, e são geralmente referidos como “fungicidas de um único sítio” ou “fungicidas de sítio específico”. Portanto, apenas uma única mutação pode fazer com que o sítio alvo seja alterado, tornando o fungo menos vulnerável ao fungicida (BRENT; HOLLOMON, 2007b).

Um dos exemplos mais conhecidos de alterações no sítio de ação é o caso dos MBC. Por exemplo, o carbendazin, tem a propriedade de se ligar à tubulina, que constitui a proteína que compõem os microtúbulos do fuso mitótico das células; assim ocorre a inibição da mitose e de outros processos celulares, pois os microtúbulos não se unem (AZEVEDO, 2001;

GHINI; KIMATI, 2000). Em trabalhos realizados por Davidse e Flach (1977), esses autores observaram que a resistência de isolados de *Aspergillus nidulans* (Eidam) G. Winter ao fungicida carbendazim é causada pela mutação em um único gene, a qual resulta em ligeiras alterações na proteína tubulina e reduzem a afinidade ao carbendazim. Quanto maior for a afinidade do fungicida com a tubulina, maior será a sensibilidade do organismo. Por outro lado, se uma mutação reduz a afinidade de ligação da tubulina com o fungicida, não afetando o funcionamento normal da proteína, será originada uma linhagem resistente. De acordo com Ishii (2004), em *Venturia nashicola* (S. Tanaka & S. Yaman), *Botrytis cinerea* (Pers.) e *Gibberella fujikuroi* ((Sawada) Wollenw.) a ligação de carbendazim a proteína tubulina foi muito menor em isolados resistentes a MBC do que em isolados sensíveis, sugerindo que o decréscimo de afinidade do fungicida na proteína é o principal fator de resistência.

O primeiro relato de resistência aos fungicidas MBC ocorreu após dois anos da sua introdução no mercado em diversos patógenos (BRENT; HOLLOMON, 2007b; KUCK; GISI, 2007). A resistência se desenvolveu crescentemente durante 20 anos, e sinais de alerta para a seleção de populações de patógenos resistentes logo se tornou uma realidade após os MBC serem utilizados em larga escala. Conseqüentemente, os patógenos previamente controlados por esse grupo de fungicidas foram reduzidos (DELEN; TOSUN, 2004).

Vários relatos de resistência aos fungicidas MBC foram observados em muitas espécies fúngicas e na maioria dos casos, a resistência foi correlacionada com mutações pontuais no gene β -tubulina, que resulta em sequência de aminoácidos alterada no sítio de ligação dos MBC (MA; MICHAILIDES, 2005). Resultados de vários estudos mostraram que mutações nos códons 6, 50, 167, 198, 200 e 240 no gene β -tubulina poderiam causar resistência a MBC em isolados de fungos fitopatogênicos (BANNO et al., 2008; BARALDI et al., 2003; KOENRAADT; SOMERVILLE; JONES, 1992; MA et al., 2003; MA et al., 2005; MCKAY et al., 1998). De acordo com estudos de Ishii (2004) em *Venturia nashicola* (S. Tanaka & S. Yaman) uma substituição do aminoácido ácido glutâmico (GAG) no códon 198 pelo aminoácido alanina (GCG) resultou em alta resistência aos MBC.

Em estudos realizados por Sánches-Torres e Tuset (2011) foi observado que isolados de *Penicillium digitatum* ((Pers.) Sacc.) resistentes a tiabendazol exibiam uma única mutação pontual na posição do nucleotídeo 992 do gene β -tubulina, onde timina foi substituída por adenina (TTC-TAC) no códon 200, que substituiu o aminoácido fenilalanina por tirosina.

Os níveis de resistência a fungicidas podem ser mensurados no laboratório pela exposição ao fungicida de uma coleção de fungos provenientes de uma população de campo e, em seguida, é medida a resposta de toxicidade. Essa resposta é geralmente mensurada pela

inibição do crescimento micelial, germinação do esporo, ou infecção na planta nos casos onde o fungo não pode ser cultivado em meio de cultura. Posteriormente, a concentração efetiva para inibir 50% do crescimento micelial (CE_{50}), germinação dos esporos, ou infecção foi estimada para cada amostra individual (DAMICONE; SMITH, 2012).

Esses ensaios de laboratório foram demonstrados por Ma; Yoshimura e Michailides (2003), ao avaliarem a sensibilidade de isolados de *Monilinia fructicola* ((G. Winter) Honey) aos fungicidas tiofanato metílico e benomil, onde observaram que os isolados sensíveis (S) e com baixa resistência (LR) a tiofanato metílico tiveram valores de CE_{50} variando de 0,2644 a 0,7362 μg de i.a/mL e 2,3844 a 6,4212 μg de i.a/mL, respectivamente. Enquanto os valores estimados de CE_{50} para os isolados com alta resistência a tiofanato metílico e benomil foram maiores do que 50 μg de i.a/mL. Também observaram que 10 isolados de *M. fructicola* com alta resistência coletados de diferentes locais e anos na Califórnia tiveram a mesma mutação no códon 198 do gene β -tubulina. Essa mutação resultou em uma substituição de ácido glutâmico para alanina. Os isolados com baixos níveis de resistência a MBC tiveram uma mutação no gene β -tubulina no códon 6 que resultou em uma substituição do aminoácido histidina por tirosina.

Em virtude de muitos relatos da emergência de resistência a diversos fungicidas é importante que as estratégias antirresistência a esses compostos sejam adotadas e implementadas de modo preventivo. A situação mais segura e ideal seria o emprego de estratégias antes da ocorrência do problema, pois uma vez que a população do patógeno se tornou resistente, a única possibilidade de controle reside na aplicação de outro fungicida de diferente mecanismo de ação, ou um outro método de controle (AZEVEDO, 2001).

As estratégias específicas para manejar a resistência variam para diferentes grupos de fungicidas, o patógeno alvo, e a cultura. No entanto, algumas estratégias são geralmente efetivas, integrando práticas culturais como rotação de culturas, sanitização, uso de variedades de plantas resistentes com padrões de uso ótimo do fungicida, como realizar uma boa cobertura na pulverização, o uso de misturas com fungicidas protetores, e alternância de fungicidas de diferentes grupos químicos (DAMICONE; SMITH, 2012).

Provavelmente, o aspecto mais importante para uso dos fungicidas é o desenvolvimento de tanque de mistura e a pulverização alternada de fungicidas em risco de perda da efetividade, com fungicidas de diferentes modos de ação (DAMICONE; SMITH, 2012). No uso de misturas, é realizada uma mistura de uma ou mais substâncias ativas com propriedade similares ou complementares, mas com diferentes modos de ação. Outros procedimentos devem ser adotados tais como limitar o número de aplicações (frequência) de

fungicidas em uma estação de cultivo para reduzir a pressão de seleção e com isso, reduzir o risco do aparecimento de populações resistentes (EPPO, 2003). Essa estratégia depende do fato que biótipos resistentes que são selecionados pelo uso dos fungicidas podem ser menos adaptados do que os biótipos sensíveis e tenderiam a desaparecer da população quando a pressão de seleção for removida. Outras diferentes estratégias são utilizadas de modo integrado tais como manter a dose recomendada pelos fabricantes dos produtos e realizar o manejo integrado de doenças (AZEVEDO, 2001; BRENT; HOLLON, 2007b; EPPO, 2003; PICININI, 1994).

Adaptabilidade

Segundo Zambolim (2008), adaptabilidade é a habilidade de uma linhagem de fungo se desenvolver, reproduzir e sobreviver, comparada a outras linhagens nas mesmas condições. A avaliação da adaptabilidade de uma linhagem resistente, por exemplo, pode ser obtida fazendo-se uma comparação com uma linhagem sensível quanto a capacidade de infectar, colonizar os tecidos do hospedeiro e esporular (AZEVEDO, 2001; GHINI; KIMATI, 2000).

A adaptabilidade de isolados resistentes determinará a permanência do genótipo resistente na ausência da pressão de seleção. Em muitos casos, os isolados resistentes podem ter menor adaptabilidade do que isolados sensíveis e, conseqüentemente, podem não sobreviver na ausência da pressão de seleção do fungicida. Nesse caso, a frequência de isolados resistentes na população do patógeno poderá diminuir quando as aplicações de fungicidas cessarem (MA; MICHAILIDES, 2005). Por isso, a resistência pode ter um custo de adaptabilidade, em que na ausência da pressão de seleção do fungicida, o indivíduo resistente tem menor habilidade competitiva (PEREIRA et al., 2012). Um exemplo, é que a resistência pode ter um efeito pleiotrópico, resultando em menor adaptabilidade (MA; MICHAILIDES, 2005).

Tal fato é demonstrado por Davidse (1986), onde observou que várias mutações ocorrendo no gene β -tubulina de *A. nidulans* poderia conferir resistência a benomil, bem como, sensibilidade a altas e baixas temperaturas. Outro exemplo foi observado por Yan e Dickman (1996), em que um mutante resistente a benomil de *Fusarium moniliforme* (J. Sheld) induzido em laboratório, com uma mutação no códon 50 do gene β -tubulina mostrou sensibilidade ao frio, não sendo capazes de crescerem em temperaturas baixas (15 °C). Ao examinarem a segregação da sensibilidade ao frio e da resistência ao benomil utilizando cruzamentos sexuais, o mutante A102tub2 foi cruzado com um isolado sensível A-59, e a

progênie gerada foi resistente ao benomil, além disso, houve 100% de correlação da resistência a benomil com a sensibilidade ao frio. Portanto, parece que tanto a resistência a benomil quanto a sensibilidade ao frio ocorre devido a uma mutação no códon 50.

Tais efeitos pleiotrópicos podem interferir na adaptabilidade dos isolados resistentes e imporem uma desvantagem seletiva sobre esses isolados em condições de campo. Adicionalmente, a informação sobre a sensibilidade de temperatura dos isolados resistentes poderia impactar diretamente nas estratégias de aplicação de fungicidas, por exemplo, se isolados resistentes mostram sensibilidade a altas temperaturas, dias quentes podem ser as vezes mais apropriado para a aplicação de fungicidas em campo onde isolados resistentes foram detectados (MA; MICHAELIDES, 2005).

Em algumas ocasiões, os isolados resistentes podem ser adaptados tanto quanto os isolados sensíveis e persistirem por um longo período mesmo sem o uso de fungicidas. Esse fato foi comprovado por Baraldi et al. (2003), ao analisarem a sensibilidade a tiabendazol (MBC) e a adaptabilidade de isolados de *Penicillium expansum* (Link) patogênicos a pera. Onde verificaram que isolados sensíveis e resistentes tem crescimento *in vitro* similar, porém os isolados resistentes foram caracterizados por uma alta severidade da infecção nos frutos. O diâmetro da lesão para todos os isolados sensíveis foi de 19 mm, enquanto que para os isolados resistentes o diâmetro da lesão variou de 32 a 39 mm, houve uma diferença significativa no diâmetro da lesão entre os isolados sensíveis e resistentes.

Não há dúvidas de que os métodos químicos de controle serão requeridos para manter os produtos agrícolas confiáveis e de boa qualidade, mas os agroquímicos não podem ser adotados isoladamente como única medida de controle, é recomendada a integração do controle químico com outros métodos de controle. O grande desafio da proteção de plantas é diminuir as consequências indesejáveis do manejo incorreto dos agroquímicos, tais como perda da eficiência dos fungicidas devido a emergência de resistência fúngica e reduzir a quantidade de resíduos químicos nos produtos (AZEVEDO, 2001).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a sensibilidade de isolados de *L. theobromae* ao fungicida tiofanato metílico, fungicida comumente empregado em pomares de mamoeiros no Nordeste brasileiro, bem como mensurar os vários componentes de adaptabilidade, tais como, taxa de crescimento micelial, sensibilidade osmótica, produção de conídios e picnídios, germinação de conídios, crescimento em diferentes temperaturas e virulência em frutos do mamoeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT - Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 20 dez. 2012.
- ALVES, A.; CROUS, P.W.; CORREIA, A.; PHILLIPS, A.J.L. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 28, p. 1-13, 2008.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz do Sul, 2012. 128 p.
- ARAÚJO FILHO, G. C. de; PAZ, J. de S.; CASTRO, F. de A.; SEABRA FILHO, M. **Produtor de Mamão**. Fortaleza: Edições Demócrito Rocha; Instituto Centro de Ensino Tecnológico, 2002. 72p.
- AZEVEDO, L.A.S. **Proteção integrada de plantas com fungicidas: teoria, prática e manejo**. São Paulo, ISBN, 2001. 230 p.
- BANNO, S.; FUKUMORI, F.; ICHIISHI, A.; OKADA, K.; UEKUSA, H.; KIMURA, M.; FUJIMURA, M. Genotyping of benzimidazole-resistant and dicarboximide-resistant mutations in *Botrytis cinerea* using real-time polymerase chain reaction assays. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 98, p. 397-404, 2008.
- BARALDI, E.; MARI, M.; CHIERICI, E.; PONDRELLI, M.; BERTOLONI, P.; PRATELLA, G.C. Studies on thiabendazole resistance of *Penicillium expansum* of pears: pathogenic fitness and genetic characterization. **Plant Pathology**, Oxford, v. 52, p. 362-370, 2003.
- BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control**. Amsterdam: Elsevier, 2001. 432p.
- BARBOSA, J.A. **Procedência, qualidade e perdas pós-colheita de frutos tropicais no mercado atacadista da Empresa de Abastecimento e Serviços agrícolas de Campina Grande – PB**. 2006. 244 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Paraíba, Areia.
- BATISTA, D.C.; COSTA, V.S.O.; BARBOSA, M.A.G.; TERAPO, D.; SILVA, F.M.; TAVARES, S.C.C.H. **Manejo Integrado de *Lasiodiplodia theobromae* em videira no submédio do vale do São Francisco**. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA, 2010.7p (Circular Técnica, 91).

BENATO, E.A.; CIA, P.; SIGRIST, M.M.J.; SOUZA, N.L. Efeito do tratamento hidrotérmico no controle de podridões pós-colheita em maracujá-amarelo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.27, p.399-402, 2001.

BRENT K.J. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? Brussels: GIFAP, 1995. 48p.

BRENT, K.J.; HOLLOMON, D.W. Fungicide resistance: the assessment of risk. Brussels: FRAC, 2007a. 53 p.

BRENT, K.J.; HOLLOMON, D.W. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? 2ª. Ed. Brussels: FRAC, 2007b. 56 p.

BRIGGS, J.; WHITWELL, T.; FERNANDEZ, R.T.; RILEY, M.B. Effect of integrated pest management strategies on chlorothalonil, metalaxyl, and thiophanate-methyl runoff at a container nursery. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 127, 1018-1024, 2002.

CAPOTE, N.; PASTRANA, A.M.; AGUADO, A.; SÁNCHEZ-TORRES, P. **Molecular tools for detection of plant pathogenic fungi and fungicide resistance**. Plant Pathology, 2012. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/plant-pathology/molecular-tools-for-detection-of-plant-pathogenic-fungi-and-fungicide-resistance>> Acesso: 26 dez. 2012.

CARDOSO, J. E.; FREIRE, F. C. O. Identificação e manejo das principais doenças. In: MELO, Q. M. S. (ed.) **Caju Fitossanidade**. Brasília. Embrapa Informação Tecnológica, 2002, p.41-51 (Série Frutas do Brasil).

COSTA, A. F. S.; PACOVA, E. B. V. Caracterização de cultivares, estratégias e perspectivas do melhoramento genético do mamoeiro. In: MARTINS, D. DOS S.; COSTA, A. DE F. S. DA (Eds.). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória: INCAPER, 2003. p. 57-102.

DAMICONE, J.; SMITH, D. **Fungicide Resistance Management**. Oklahoma Cooperative Extension Service. Disponível em: <<http://osufacts.okstate.edu>> Acesso em: 28 dez. 2012.

DANTAS, J.L.L. Cultivares. In: TRINTADE, A.V. **Mamão Produção: aspectos técnicos**. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA) - Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 77p (Série Frutas do Brasil, 3).

DANTAS, J.L.L.; CASTRO NETO, M.T.C. Aspectos botânicos e fisiológicos. In: TRINTADE, A.V. **Mamão Produção: aspectos técnicos**. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA) - Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 77p (Série Frutas do Brasil, 3).

DAVIDSE, L.C. Benzimidazole fungicides: mechanism of action and biological impact. **Annual Review of Phytopathology**. Palo Alto, v. 24, p. 43-65, 1986.

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**, New York, v. 72, p. 174-193, 1977.

DAVIDSON, R.M.; HANSON, L. E.; FRANC, G. D.; PANELLA, L. Analysis of β -tubulin gene fragments from benzimidazole-sensitive and -tolerant *Cercospora beticola*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 154, p. 321-328, 2006.

DELEN, N.; TOSUN, N. Fungicidas: modo de ação e resistência. Parte 2: Fungicidas com modos de ação específicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.12, p.27-90, 2004.

ECKERT, J.W; OGAWA, J.M. The chemical control of postharvest diseases: subtropical and tropical fruits. **Annual Review of Phytopathology**. Palo Alto, v. 3, p. 421-454, 1985.

ENG, F.; GUTIÉRREZ-ROJAS, M.; FAVELA-TORRES, E. Efecto de la temperatura y el pH en el crecimiento superficial de *Botryodiplodia theobromae* RC1. **Revista Iberoamericana de Micología**, Barcelona, v. 20, p. 172-175, 2003.

EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization. **Efficacy evaluation of plant protection products: Resistance risk analysis**, Bulletin 33, p.37-63, 2003.

FAO. Fao-Food and Agriculture Organization. Faostat Data Base results from FAO website. Disponível em: <<http://www.fao.org/corp/statistics/en/>> Acesso em: 4 dez. 2012.

FARIAS, A. R. N.; OLIVEIRA, A. M. G.; SANTOS FILHO, H. P.; OLIVEIRA, J.R.P.de; DANTAS, J.L.L; OLIVEIRA, M. de A.; SANCHES, N.F.; MEDINA, V.M.; CORDEIRO, Z.J.M. **A cultura do mamão**. 2ª. ed. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. 92 p. (Coleção Plantar, n. 37).

FREIRE, F. C. O.; VIANA, F. M. O.; CARDOSO, J. E.; SANTOS, A. A. **Novos hospedeiros do fungo *Lasiodiplodia theobromae* no estado do Ceará**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004, 6 p. (Comunicado Técnico, 91).

FRAC. Fungicide resistance action committee. **FRAC code list: fungicide sorted by mode of action**, 2012. Disponível em: < <http://www.frac.info/publication/anhang/FRAC-Code-List2011-final.pdf> > Acesso em: 18 dez. 2012a.

FRAC. Fungicide resistance action committee. **FRAC list of fungicide common names**, 2012. Disponível em:

<<http://www.frac.info/publication/anhang/2012%20FRAC%20List%20Fungicide%20Common%20Names.pdf>> Acesso em: 20 dez. 2012b.

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

HOLLOMON, D. Fungicides. In: WALLER, J.M.; LENNÉ, J.M.; WALLER, S.J. **Plant Pathologist's Pocketbook**. 3^a.ed. London: CAB International, 2002, cap. 32, p. 336-344.

IBGE - IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **SIDRA 2011**: Dados de safra de mamão no Brasil. On-line. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Em: 02 dez. 2012.

ISHII, H. Studies on fungicide resistance in phytopathogenic fungi. **Journal of General Plant Pathology**, Tóquio, v. 70, p. 379-381, 2004.

JACOMINO, A. P.; BRON, L. U.; KLUGE, R. A. **Avanços em tecnologia pós-colheita de mamão**. In: MARTINS, D. S. **Papaya Brasil**: qualidade do mamão para o mercado interno. Vitória: INCAPER, 2003. p. 283-293.

KHANZADA, M. A.; RAJPUT, A. Q.; SHAHZAD, S. Effect of medium, temperature, light and inorganic fertilizers on in vitro growth and sporulation of *Lasiodiplodia theobromae* isolated from mango. **Pakistan Journal of Botany**, Pakistan, v. 38, n. 3, p. 885-889, 2006.

KOENRAADT, H., SOMERVILLE, S.C., JONES, A.L. Characterization of mutations in the beta-tubulin gene of benomyl-resistant field strains of *Venturia inaequalis* and other plant pathogenic fungi. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 82, p. 1348-1354, 1992.

KUCK, K.H.; GISI, U. FRAC Mode of action classification and resistance risk of fungicides. In: KRAMER, W.; SCHIRMER, U. **Modern crop protection compounds**. Weinheim: WILEY-VCH, 2007. v. 3, cap. 12, p. 415-432.

MA, Z.; MICHAILIDES, T.J. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. **Crop protection**, Guildford, v. 24, p. 853-863, 2005.

MA, Z.; YOSHIMURA, M.A.; HOLTZ, B.A.; MICHAILIDES, T.J. Characterization and PCR-based detection of benzimidazole-resistant isolates of *Monilinia laxa* in California. **Pest Management Science**, Sussex, v. 61, 449-457, 2005.

MA, Z.; YOSHIMURA, M.A.; MICHAILIDES, T.J. Identification and characterization of benzimidazole resistance in *Monilinia fruticola* from stone fruit orchards in California. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 12, p. 7145-7152, 2003.

MARIN, S.L.D. **Mamão Papaya: produção, pós-colheita e mercado**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2004. 82 p.

MAY-DE MIO, L. L.; LUO, Y.; MICHAILIDES, T. J. Sensitivity of *Monilinia fruticola* from Brazil to tebuconazole, azoxystrobin, and thiophanate-methyl and implications for disease management. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 95, p. 821-827, 2011.

MCKAY, G.J.; EGAN, D.; MORRIS, E.; BROWN, A.E. Identification of benzimidazole resistance in *Cladobotryum dendroides* using a PCR-based method. **Mycological Research**, Cambridge, v. 102, p. 671–676, 1998.

MENDONÇA, V.; MEDEIROS, L.F. **Cultura do cajueiro, do coqueiro e do mamoeiro**. Mossoró-RN: Universidade Federal Rural do Semiárido/UFERSA, 2011. 81p (Boletim técnico 3).

MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL. **Frutiseris 7: Mamão**. Brasília-DF: Ministério da Integração Nacional, 2000. Disponível em: <<http://www.mi.gov.br/infrastrukturahidrica/publicacoes/frutiseris.asp>> Acesso: 27 nov. 2012

MONTEIRO, J.H.A.; SILVA, M.B.; GONÇALVES, F.J.T.; CÂMARA, M.P.S.; ALBUQUERQUE, P.M.F. Sensibilidade a fungicidas de *Lasiodiplodia theobromae* associados a frutos de mamão. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2009, Recife. **Resumos...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2009. 3p.

MORTUZA, M. G.; ILAG, L. L. Effect of temperature and humidity on the germination and growth of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl., cause of stem-end rot of mango (*Mangiferae indica* L.). **Philippine Phytopathology**, Laguna, v. 31, n. 1, p. 1-8, 1995.

NERY-SILVA, F.A.; MACHADO, J.C.; LIMA, L.C.O.; RESENDE, M.L.V. de. Controle químico da podridão peduncular de mamão causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.3, p.519-524, 2001.

OLIVEIRA, A.A.R.; NASCIMENTO, A.S.; BARBOSA, C.J.; SANTOS FILHO, H.P.; MEISSNER FILHO, P.E. **Doenças**. In: RITZINGER, C.H.S.P.; SOUZA, J.S. **Mamão**. Fitossanidade. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2000. 91p (Série Frutas do Brasil, 11).

OLIVEIRA, A.A.R.; SANTOS FILHO, H.P. **Podridões pedunculares**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura/CNPMPF, 2004. 2p. (Mamão em foco, 22).

OLIVEIRA, S.M.A; TAVARES, S.S.C.H; DANTAS, S.A.F. Diagnose e manejo de doenças das fruteiras tropicais no Nordeste brasileiro. IN: MICHERREF, S.J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife: Imprensa Universitária, 2001. cap. 8, p. 186-223.

PEREIRA, F.A.; CARNEIRO, M.R.; ANDRADE, L.M. **A cultura do mamão**. Brasília: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. 119 p (Coleção plantar, 65).

PEREIRA, A.V.S.; MARTINS, R.B.; MICHEREFF, S.J.; SILVA, M.B. DA; CÂMARA, M.P.S. Sensitivity of *Lasiodiplodia theobromae* from brazilian papaya orchards to MBC and DMI fungicides. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 132, p. 489-498, 2012.

PEREIRA, A.L.; SILVA, G.S.; RIBEIRO, V.Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 572-578, 2006.

PICININI, EC. Fungicidas benzimidazoles. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.2, p.357-409, 1994.

REIS, E.M.; REIS, A.C.; FORCELINI, C.A. **Manual de fungicidas**: guia para o controle químico de doenças de plantas. 5ª. ed. Passo Fundo: Editora da Universidade de Passo Fundo, 2007. 136p.

REZENDE, J. A. M.; FANCELLI, M. I. Doenças do mamoeiro (*Carica papaya* L.). In: H. KIMATI, L. AMORIM, A. BERGAMIN FILHO, L.E.A. CAMARGO, J.A.M. REZENDE (Eds.) **Manual de fitopatologia – doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997, v.1, cap. 46, p.486-496.

RITZINGER, C.H.S.P.; SOUZA, J.S. Fitossanidade na exportação de mamão. In: RITZINGER, C.H.S.P.; SOUZA, J.S. **Mamão fitossanidade**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2000. 91p (Frutas do Brasil, 11).

RODRIGUES, M.A.T. **Classificação de fungicidas de acordo com o mecanismo de ação proposto pelo FRAC**. 2006. 291 f. Dissertação (Mestrado em proteção de plantas) – Faculdade de Ciências agrônômicas, Botucatu.

RODRIGUES, R. **Caracterização morfológica e patológica de *Lasiodiplodia theobromae* (pat.) Griffon & Maubl., agente causal das podridões de tronco e raízes da videira.** 2003. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico de Campinas-IAC, Campinas.

SAHA, A.; MANDAL, P.; DASGUPTA, S.; SAHA, D. Influence of culture media and environmental factors on mycelial growth and sporulation of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon and Maubl. **Journal of Environmental Biology**, India, v. 29. n. 3, p. 407-410, 2008.

SÁNCHEZ-TORRES, P.; TUSET, J. J. Molecular insights into fungicide resistance in sensitive and resistant *Penicillium digitatum* strains infecting citrus. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 159-165, 2011.

SENHOR, R.F.; SOUZA, P.A. de; NETO, R.C.A.; MARACAJÁ, P.B.; NASCIMENTO, F.J. Manejo de doenças pós-colheita. **Revista verde**, Mossoró, v.4, n.1, p. 0-13, 2009.

SUZUKI, M. S.; ZAMBOLIM, L.; LIBERATO; J. R. Progresso de doenças fúngicas e correlação com variáveis climáticas em mamoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.2, p.167-177, 2007.

SILVA, J.A.T; RASHID, Z.;NHUT, D.T.; SIVAKUMAR, D.; GERA, A.; SOUZA JR., M.T.; TENNANT, P.F. Papaya (*Carica papaya* L.) biology and biotechnology. **Tree and Forestry Science and Biotechnology**, United Kingdom, v. 1, p.47-63, 2007.

STEFFENS, J.J.; PELL, E.J.; TIEN, M. Mechanisms of fungicide resistance in phytopathogenic fungi. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 7, p. 348-355, 1996.

ÚRBEZ-TORRES, J. R.; LEAVITT, G. M.; GUERRERO, J. C.; GUEVARA, J.; GUBLER, W. D. Identification and pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Diplodia seriata*, the causal agents of bot canker disease of grapevines in Mexico. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 92, n. 4, p. 519-529, 2008.

VIANA, F.M.P.; CARDOSO, J.E.; SOUZA, R.N.M.; HOLANDA, V.O. **Controle da podridão-da-haste-do-mamoeiro no Estado do Ceará.** Fortaleza: Embrapa, 2007. 4 p. (Comunicado técnico, 133).

YAN, K.; DICKMAN, M. Isolation of a b-tubulin gene from *Fusarium moniliforme* that confers cold-sensitive benomyl resistance. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 8, p. 3053-3056, 1996.

YOUNG, D.H. Fungicides acting on mitosis and cell division. In: KRÄMER, W.; SCHIRMER, U. **Modern crop protection compounds**. Weinheim: WILEY-VCH, 2007. v. 3, cap. 16, p. 581-590.

ZAMBOLIM, L. Resistência de fungos a fungicidas. In: ZAMBOLIM, L.; PICANÇO, M.C.; SILVA, A.A.; FERREIRA, L.R.; JESUS JUNIOR, W.C.; FERREIRA, F.A (Eds). **Produtos fitossanitários (fungicidas, inseticidas, acaricidas e herbicidas)**. Viçosa: UFV/DFP, 2008. cap. 6, 213 – 262.

Capítulo II

Sensibilidade de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* de mamoeiros do Nordeste brasileiro a tiofanato metílico

Submissão: **European Journal of Plant Pathology**

Dordrecht, Holanda

Qualis CAPES = A2

Sensibilidade de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* de mamoeiros do Nordeste brasileiro a tiofanato metílico

Rômulo D. Cavalcante¹, Waléria G. Lima¹, Ricardo B. Martins², Sami J. Michereff¹, Marcos P. S. Câmara¹

¹Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900

Recife, PE, Brasil

²Campus Arapiraca, Universidade Federal de Alagoas, 57309-005 Arapiraca, AL, Brasil

Autor para correspondência: Marcos P. S. Câmara - e-mail: mcamara@depa.ufrpe.br

Número do telefone: +55 8133206205

Número do fax: +55 8133206200

Resumo A podridão peduncular causada por *Lasiodiplodia theobromae* é uma doença em pós-colheita importante na cultura do mamoeiro no Brasil. O uso de fungicidas é uma das principais medidas de manejo da doença. Dados sobre a sensibilidade de *L. theobromae* a tiofanato metílico, fungicida comumente empregado em pomares de mamoeiros no Nordeste brasileiro são inexistentes. Sendo assim, a CE_{50} de 109 isolados do fungo, representando cinco populações do patógeno foi estimada *in vitro* para o fungicida tiofanato metílico (Metil Benzimidazol Carbamatos-MBC). Sete componentes de adaptabilidade foram mensurados para os 10 isolados com menores e maiores valores de CE_{50} . Dos 109 isolados, 20,2% foram não sensíveis (NS) ao fungicida com valores de CE_{50} superiores a $300 \mu\text{g ml}^{-1}$, para 79,8% dos isolados remanescente denominados de sensíveis (S), a média de CE_{50} foi $1,87 \mu\text{g ml}^{-1}$. Os valores da CE_{50} dos isolados NS foram significativamente ($P \leq 0.05$) superiores quando comparados com os isolados S. Quando foram avaliados os componentes de adaptabilidade, os isolados não sensíveis apresentaram capacidade de esporulação significativamente inferior aos isolados sensíveis, indicando um custo de adaptabilidade.

Palavras-chave adicionais: resistência a fungicidas, *Carica papaya*, podridão peduncular, Botryosphaeriaceae, adaptabilidade

Abstract Stem rot caused by *Lasiodiplodia theobromae* is an important postharvest disease of papaya in Brazil. The use of Fungicides is one of the main disease management measures. However, there are no data available on the sensitivity of *L. theobromae* to thiophanate methyl, the most common fungicide used in papaya orchards in Northeastern Brazil. Thus, the EC_{50} of 109 isolates of the fungus, representing five populations of the pathogen was estimated *in vitro* for the fungicide methyl thiophanate (methyl benzimidazole carbamates). Seven components of fitness were measured for the 10 isolates with lower and high values of EC_{50} . Of the 109 isolates, 20,2% were non-sensitive (NS) to the fungicide with EC_{50} values greater than 300 mg ml^{-1} , for the remaining 79.8% sensitive (S) isolates the average EC_{50} was $1.87 \mu\text{g ml}^{-1}$. The EC_{50} values for the NS isolates were significantly ($P \leq 0.05$) higher than those for the sensitive isolates. When the fitness components were evaluated, the non-sensitive (NS) isolates showed sporulation capacity significantly lower than the sensitive isolates, indicating a fitness costs.

Additional Keywords: fungicide resistance, *Carica papaya*, stem rot, Botryosphaeriaceae, fitness

Introdução

O Brasil ocupa a segunda posição no ranking mundial de produção de mamão (*Carica papaya* L.), com 17% do volume global, sendo superado apenas pela Índia. O país exporta cerca de 30 mil toneladas dessa fruta, destinadas principalmente à União Europeia, o que representa apenas 2% do volume total produzido, gerando mais de US\$ 39 milhões em receita anualmente (Anuário Brasileiro da Fruticultura 2012). Nos últimos 12 anos, o Brasil registrou um aumento de mais de 600% nas exportações de mamão (FAO 2013). Em função desse avanço, tem havido significativos investimentos em práticas que visam a melhoria da qualidade do fruto para suprir as exigências dos países importadores, principalmente no que se refere à sanidade e presença de produtos residuais. O rigor na qualidade e na sanidade dos frutos imposto pelo mercado externo ocorre em função da maior parte desses ser reservada ao consumo *in natura*. Além disso, qualquer anormalidade, especialmente lesões causadas por patógenos, implica em inadequação ao mercado (Ritzinger e Souza 2000).

As podridões causadas por fungos são as doenças mais comuns na fase de pós-colheita do mamão (Dantas e Oliveira 2006; Silva et al. 2007; Ventura et al. 2003). A podridão peduncular causada por *Lasiodyplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. é uma importante doença pós-colheita dessa cultura no Brasil e no mundo, pois resulta em perdas de produção e redução no valor comercial dos frutos (Dantas et al. 2003; Freire et al. 2004; Paull et al. 1997; Pereira et al. 2012; Ventura et al. 2003).

Os sintomas da doença iniciam na região do pedúnculo e depois avançam por todo o fruto. Os tecidos ficam com aspecto encharcado e com a progressão dos sintomas, as lesões tornam-se marrom-escuras e deprimidas. A área infectada torna-se aos poucos desprovida do tecido parenquimatoso e os frutos perdem sua consistência e vigor (Dantas e Oliveira 2006; Ventura et al. 2003). *L. theobromae* também é capaz de infectar a região central dos troncos do mamoeiro, causando podridão. Em casos mais graves, essa situação pode levar à destruição de pomares inteiros (Freire et al. 2004; Viana et al. 2007).

A podridão peduncular do mamão inicia no campo, onde o patógeno se estabelece no fruto imaturo e permanece em estágio quiescente, sem o aparecimento de sintomas, até que ocorram condições favoráveis para o início do processo de infecção. O manejo da podridão peduncular consiste em práticas para prevenir a infecção e retardar o desenvolvimento dos sintomas. Diante disso, para o controle eficiente da doença é necessário que as práticas de manejo se estendam desde o campo até a pós-colheita. As medidas incluem pulverizações periódicas com fungicidas a partir do início da frutificação, evitar ferimentos na superfície dos

frutos durante a colheita, armazenagem a baixas temperaturas e tratamento químico com fungicidas na pós-colheita (Dantas e Oliveira 2006; Santana et al. 2007; Ventura et al. 2003).

Vários fatores podem levar a resultados desfavoráveis quando as doenças de plantas são manejadas com fungicidas. Um dos fatores mais problemáticos é a baixa eficácia devido à resistência dos patógenos aos fungicidas, o que se tornou comum após a introdução de fungicidas com mecanismos específicos de ação (Avenot and Michailides, 2010; Brent and Hollomon 2007a; Brent and Hollomon 2007b; Kuck et al. 2012; Ma and Michailides 2005).

No Brasil, apenas tiabendazole (benzimidazol, grupo dos metil benzimidazol carbamatos – MBC) é registrado para o controle de *L. theobromae* em mamoeiro (MAPA 2013). No entanto, vários outros princípios ativos são utilizados nas áreas de produção de mamão do Nordeste brasileiro (Pereira et al. 2012), com destaque para tiofanato metílico (tiofanato, grupo MBC), registrado para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Oidium caricae* (MAPA 2013; Ventura et al. 2003). Os fungicidas MBCs atuam sobre a mitose e a divisão celular dos fungos e têm como sítio primário de ação a montagem da β -tubulina na mitose (FRAC 2013; Kuck et al. 2012).

O uso freqüente de fungicidas com sítios específicos de ação, como os MBCs, têm grande potencial para o desenvolvimento de resistência em populações de *L. theobromae*. Isolados de *L. theobromae* obtidos de manga apresentaram resistência aos fungicidas tiofanato metílico, benomil e tiabendazole nos Estados Unidos da América (Spalding 1982), enquanto isolados de mamão apresentaram baixa sensibilidade a benomil e tiabendazole no Brasil (Pereira et al. 2012). Embora benomil tenha sido retirado do mercado brasileiro em 1992 (May-de-Mio et al. 2011), os produtores de mamão têm a opção de usar tiofanato metílico, outro MBC, em substituição ao benomil. Como os mecanismos de ação desses princípios ativos são os mesmos, existe uma elevada probabilidade da existência de populações de *L. theobromae* resistentes a tiofanato metílico nos pomares brasileiros de mamoeiros.

Um dos fatores mais importantes afetando a evolução da resistência a fungicidas em populações de fungos é a adaptabilidade de isolados resistentes (Peever e Milgroom 1994; Skylakakis 1987). Adaptabilidade tem sido definida como a habilidade de um isolado para sobreviver, desenvolver e reproduzir comparado a outros isolados sob as mesmas condições. Assim, algumas mudanças metabólicas que determinam um isolado se comportar como não sensível podem estar ligadas a uma menor adaptabilidade na presença ou ausência do fungicida (Ghini e Kimati 2000). Parâmetros como a capacidade do patógeno para crescer, reproduzir e competir em um hospedeiro susceptível, bem como patogenicidade e sobrevivência através de ciclos repetidos, são usadas para mensurar a adaptabilidade de um

organismo. Custos de adaptabilidade também têm sido mensurados em termos de crescimento micelial, produção de esporos, germinação de esporos, período de incubação e virulência (Antonovics e Alexander 1989).

Esse estudo teve como objetivos investigar a sensibilidade de isolados de *L. theobromae* do mamão a tiofanato metílico e a relação entre sensibilidade a esse fungicida e os parâmetros associados à adaptabilidade. Portanto, testam-se duas hipóteses: 1. Populações de *L. theobromae* de pomares de mamoeiro diferem na sensibilidade a tiofanato metílico; 2. A sensibilidade de populações de *L. theobromae* a tiofanato metílico está associada com parâmetros de adaptabilidade: taxa de crescimento micelial, crescimento micelial em diferentes temperaturas, produção de picnídios e esporos, germinação de esporos, sensibilidade osmótica e virulência em frutos do mamoeiro.

Material e métodos

Isolados fúngicos

Foram utilizados 109 isolados de *L. theobromae*, coletados em 15 pomares de mamoeiro no Nordeste brasileiro em 2006 e 2007 (Pereira et al. 2012). Os isolados foram identificados por inferência filogenética baseada na sequência completa da região ITS (espaço interno transcrito) e na sequência parcial do gene EF-1 α (fator de alongação), como descrito previamente (Brito Netto 2012). Esses isolados representam cinco populações (A a E) de acordo com sua origem geográfica (Tabela. 1). Somente os pomares da população C não receberam aplicação de fungicidas. Todos os outros campos receberam pelo menos uma pulverização com fungicidas metil benzimidazole carbamatos (MBC), inibidores da demetilação (DMIs) ou pertencentes a outros grupos (Tabela 1). Os isolados encontram-se depositados na Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos "Prof. Maria Menezes" (CMM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife, Pernambuco, Brasil) e culturas estoque foram mantidas em meio batata dextrose ágar – BDA (Acumedia, Lansing, MI, USA) inclinado a 5°C no escuro.

Sensibilidade dos isolados a tiofanato metílico

Nesse estudo foram utilizados todos os isolados de *L. theobromae* e a formulação comercial do fungicida tiofanato metílico (Cercobin 700 WP, 700 g Kg⁻¹ ingrediente ativo (i.a.)

WP, Iharabras, São Paulo, SP, Brasil). O fungicida foi dissolvido em água destilada esterilizada e adicionado ao meio BDA fundente (45°C) para produzir sete concentrações: 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 e 16 µg de i.a ml⁻¹.

Discos de micélio (4 mm de diâmetro) removidos de margens de culturas com 4 dias de idade foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo BDA suplementado com as diferentes concentrações do fungicida. Placas de Petri contendo BDA sem fungicida foram utilizadas como testemunha. Foram utilizadas quatro placas (repetições) por combinação isolado x concentração. Após 48 h de incubação a 28°C no escuro, o crescimento radial (diâmetro) de cada colônia foi mensurado em duas direções perpendiculares, e o diâmetro original do disco de micélio (4 mm) foi subtraído dessa mensuração. A porcentagem de inibição do crescimento micelial (ICM_F) foi calculada com a fórmula $ICM_F = [(T - F)/T] \times 100$, onde T é o diâmetro da colônia da testemunha (sem fungicida) e F é o diâmetro da colônia para o tratamento com o fungicida. A porcentagem de inibição do crescimento micelial foi calculada para todas as concentrações do fungicida. A concentração efetiva do fungicida (µg i.a ml⁻¹) para inibir 50% do crescimento micelial (CE₅₀) foi calculada para cada isolado pela regressão linear das inibições do crescimento micelial versus a transformação log₁₀ para cada concentração do fungicida.

Quatro concentrações adicionais de tiofanato metílico a 50, 100, 200 e 300 µg de i.a ml⁻¹ foram preparadas para testar os isolados menos sensíveis, utilizando procedimentos similares ao descrito acima. Placas com BDA sem o fungicida foram utilizadas como testemunha.

Distribuições de frequência dos isolados de *L. theobromae* entre os intervalos de valores de CE₅₀ foram estabelecidas. Os 10 isolados com menores e maiores valores de CE₅₀ foram agrupados e denominados como sensíveis (S) e não sensíveis (NS), respectivamente. A diferença nos valores de CE₅₀ entre isolados sensíveis e não sensíveis a tiofanato metílico foi determinada pelo teste t-Student ($P=0,05$). Em seguida, os valores de CE₅₀ das cinco populações foram comparados pelo teste LSD de Fisher ($P=0,05$).

Componentes de adaptabilidade de isolados sensíveis e não sensíveis a tiofanato metílico

Os seguintes componentes de adaptabilidade foram estimados e comparados para os isolados de *L. theobromae* sensíveis e não sensíveis a tiofanato metílico: (a) taxa de crescimento micelial, (b) temperatura ótima para crescimento micelial, (c) produção de

picnídios, (d) produção de esporos, (e) germinação de esporos, (f) sensibilidade osmótica e (g) virulência. Em todos os experimentos foram utilizados 10 isolados sensíveis e 10 isolados não sensíveis ao fungicida.

Taxa de crescimento micelial

Discos de micélio (4 mm de diâmetro) removidos de margens de culturas com 4 dias de idade foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo BDA sem fungicida, as quais foram incubadas no escuro a 28°C. Foram utilizadas cinco placas (repetições) por isolado. O diâmetro das colônias foi mensurado a 24 h e 36 h em duas direções perpendiculares e obtida a média para calcular a taxa de crescimento micelial (TCM) em mm h⁻¹.

Temperatura ótima para crescimento micelial

Discos de micélio (4 mm de diâmetro) removidos de margens de culturas com 4 dias de idade foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo BDA sem fungicida. Em seguida, as placas foram incubadas separadamente a 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40°C no escuro. Foram utilizadas quatro placas (repetições) por combinação isolado-temperatura. O diâmetro das colônias foi mensurado com 36 h de incubação, em duas direções perpendiculares, sendo calculada a média. Os valores dos diâmetros das colônias versus temperaturas foram ajustados para curvas de regressão usando o modelo polinomial cúbico ($y = a + bx + cx^2 + dx^3$). A temperatura ótima (TOT), definida como aquela que propiciou maior crescimento micelial, foi estimada usando o modelo de regressão e o sumário numérico com o programa TableCurve™ 2D v. 5.01 (SYSTAT Software Inc., Chicago, IL, USA).

Produção de picnídios, produção e germinação de esporos

Para a produção de picnídios (PIC), discos de micélio (4 mm de diâmetro) removidos de margens de culturas com 4 dias de idade em BDA foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo ágar água a 2% – AA sem fungicida. Em seguida, quatro acículas de pinheiro esterilizadas foram colocadas ao lado do disco na superfície do meio de cultura e as placas foram incubadas a 28°C sob fotoperíodo de 12 h iluminação próxima a luz ultravioleta

(Slippers et al. 2004). Foram utilizadas cinco placas (repetições) por isolado. Após duas semanas de incubação, foi realizada a contagem do número de picnídios produzidos nas acículas por placa de Petri.

Para a análise da produção de esporos (PES), as acículas foram removidas da superfície do meio AA e transferidas para almofariz esterilizado. Após a adição de 10 ml de água destilada esterilizada, foi efetuada a maceração dos picnídios com pistilo esterilizados para a liberação dos esporos. A suspensão obtida de cada isolado foi filtrada em gaze esterilizada em camada dupla, transferida para tubos de ensaio esterilizados e o número de esporos por placa foi estimado utilizando-se um hemacitômetro. Três gotas de suspensão de esporos foram contadas de cada placa e cinco placas foram utilizadas por isolado.

Para avaliar a germinação dos esporos (GER), a suspensão obtida no ensaio de produção de esporos foi ajustada para a concentração de 1×10^3 esporos ml^{-1} com o auxílio de hemacitômetro. Em seguida, quatro gotas (uma gota = 40 μl) da suspensão de esporos foram colocadas na superfície do AA sem fungicida e cobertas com uma lamínula esterilizada. As placas foram incubadas a 28°C no escuro. Foram utilizadas quatro placas (repetições) por isolado. Após 6 h de incubação, a germinação dos esporos foi paralisada pela coloração com fucsina ácida em lactofenol e a porcentagem de germinação dos esporos foi determinada pela observação de 200 esporos por placa com auxílio de microscópio composto (Olympus BX41; Olympus Co., Tokyo, Japão). Um esporo foi considerado germinado quando o tubo germinativo apresentou pelo menos a metade do tamanho do seu eixo longitudinal.

Sensibilidade osmótica

Para analisar a sensibilidade osmótica (SOS), discos de micélio (4 mm de diâmetro) removidos de margens de culturas com 4 dias de idade foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo BDA suplementado com cloreto de sódio (NaCl) nas concentrações de 1, 2, 4, 6 e 8% (peso/volume). Placas de Petri contendo BDA sem NaCl constituíram-se das testemunha. Foram utilizadas quatro placas (repetições) por combinação isolado-concentração de NaCl. Após 36 h de incubação a 28°C no escuro, foi mensurado o diâmetro das colônias em duas direções perpendiculares. A porcentagem de inibição do crescimento micelial (ICM_N) foi calculada com a fórmula $\text{ICM}_N = [(T - N)/T] \times 100$, onde T é o diâmetro da colônia da testemunha (sem NaCl) e N é o diâmetro da colônia para o tratamento com NaCl. A porcentagem de inibição do crescimento micelial foi calculada para todas as concentrações de NaCl. A concentração efetiva de NaCl (%) para inibir 50% do crescimento micelial

(CE₅₀N) foi calculada para cada isolado pela regressão linear das inibições do crescimento micelial versus a transformação log₁₀ para cada concentração de NaCl.

Virulência em frutos do mamoeiro

Na análise de virulência dos isolados foram utilizados frutos de mamoeiro (cv. Golden) no estágio 4 de maturação (Ministério da Integração Nacional 2000), que não haviam sido tratados com fungicidas. Os frutos foram lavados com detergente em água corrente, desinfestados superficialmente em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% por 3 min e lavados com água destilada. Após a secagem, a epiderme de cada fruto foi perfurada em um único ponto com auxílio de uma agulha esterilizada à profundidade de 3 mm. Um disco de micélio (4 mm de diâmetro) de cada isolado foi removido da margem de colônia com 4 dias de crescimento em BDA e transferido para a epiderme ferida. Para a testemunha, foram utilizados discos de BDA não colonizados pelo fungo. Os frutos foram colocados em bandejas plásticas forradas com papéis toalhas umedecidos com água destilada e cobertos com saco plástico. Foram utilizadas cinco repetições (2 frutos por repetição) por isolado. As bandejas foram incubadas a 28°C no escuro. Após 24 h, foram removidos os sacos plásticos e os papéis toalhas das bandejas, e os frutos foram armazenados na mesma temperatura por um período adicional de 24 h. O diâmetro da lesão (DLE) foi mensurado 48 h após a inoculação em duas direções perpendiculares e calculado o diâmetro médio da lesão.

Para cada variável dos componentes de adaptabilidade analisados, as diferenças entre os isolados de *L. theobromae* sensíveis e não sensíveis a tiofanato metílico foram determinadas pelo teste t-Student ($P=0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com o programa STATISTIX v. 9.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA).

Resultados

Sensibilidade dos isolados a tiofanato metílico

A resposta de sensibilidade a tiofanato metílico variou entre os isolados de *L. theobromae*, sendo que nas concentrações analisadas os isolados apresentaram uma resposta contínua de inibição entre os extremos de sensibilidade. Os valores estimados de CE₅₀ apresentados pelos isolados variaram de 0,88 a $8,3 \times 10^9$ µg de i.a. ml⁻¹. Valores de CE₅₀

superiores a $300 \mu\text{g ml}^{-1}$, concentração máxima avaliada, ocorreram em 20,2% dos isolados, sendo denominados como não sensíveis (NS) a tiofanato metílico. Para os demais 79,8% dos isolados, considerados sensíveis (S), a média de CE_{50} foi de $1,87 \mu\text{g ml}^{-1}$ (amplitude: $0,88$ a $5,78 \mu\text{g ml}^{-1}$). Valores de CE_{50} entre $1,33$ e $1,98 \mu\text{g ml}^{-1}$ ocorreram em 59,6%, e 5,5% dos isolados apresentaram CE_{50} entre $0,88$ e $1,30 \mu\text{g ml}^{-1}$ (Fig. 1). Todos os isolados NS eram da pertenciam a população E (Tabela 1) e foram obtidos de pomares nas cidades de Parnamirim e São José do Mipibu no estado do Rio Grande do Norte, representando 62,5% e 68,0% dos isolados dessas cidades, respectivamente. Foram constatadas diferenças ($P \leq 0,05$) no nível de sensibilidade ao tiofanato metílico entre as populações de *L. theobromae* associadas a estes pomares. A população E foi a menos sensível ao fungicida, enquanto as populações C e D foram as mais sensíveis (Tabela 2).

Quando os isolados de *L. theobromae* foram agrupados conforme os extremos de sensibilidade, os valores de CE_{50} dos 10 isolados sensíveis (S) variaram entre $0,88$ e $1,47 \mu\text{g ml}^{-1}$, sendo a média ($1,26 \mu\text{g ml}^{-1}$) significativamente ($P \leq 0,05$) inferior à constatada ($>300 \mu\text{g ml}^{-1}$) nos 10 isolados não sensíveis (NS). Entre os isolados classificados como S, 40% pertenciam à populações C e 40% à população D (Tabela 1).

Componentes de adaptabilidade de isolados sensíveis e não sensíveis a tiofanato metílico

Sete componentes de adaptabilidade foram mensurados para os 20 isolados de *L. theobromae* pertencentes a dois diferentes grupos de sensibilidade a tiofanato metílico. Não houve diferença ($P=0,05$) entre isolados sensíveis (S) e não sensíveis (NS) a tiofanato metílico para taxa de crescimento micelial em meio de cultura sem fungicida (TCM), temperatura ótima para crescimento micelial (TOT), produção de picnídios (PIC), germinação de esporos (GER), sensibilidade osmótica (SOS) e virulência em frutos de mamoeiro (DLE). Houve diferença ($P=0,017$) entre os isolados S e NS a tiofanato metílico somente em relação à produção de esporos (Tabela 3).

Discussão

Este é o primeiro relato sobre a sensibilidade de isolados de *L. theobromae* obtidos de pomares de mamoeiro a tiofanato metílico e sobre a influência desse fungicida nos componentes de adaptabilidade de isolados sensíveis e não sensíveis, embora um estudo com

L. theobromae (Pereira et al. 2012) tenha sido realizado previamente com benomil e tiabendazole, também pertencentes ao grupo MBC.

Tiofanato metílico não é registrado no Brasil para o controle de *L. theobromae* em mamoeiro, mas tem registro para o controle de *C. gloeosporioides* e *O. caricae* nessa fruteira (MAPA 2013; Ventura et al. 2003), motivo pelo qual é utilizado nos pomares do Nordeste brasileiro para o controle de *L. theobromae* (Pereira et al. 2012). Os resultados desse estudo indicam que a eficácia de tiofanato metílico no controle de *L. theobromae* em mamoeiro no Nordeste brasileiro pode ser baixa, tendo em vista a elevada frequência (20,2%) de isolados não sensíveis (NS) a uma alta concentração do princípio ativo (300 µg i.a. ml⁻¹). Todos os isolados NS de *L. theobromae* foram oriundos de uma única população (E) e representaram 66,7% dos isolados dessa população. Resultados similares foram constatados por Pereira et al. (2012), quando analisaram a sensibilidade de isolados dessa população em relação aos fungicidas benomil e tiabendazole. Portanto, existem fortes indícios de ocorrência de resistência cruzada aos diferentes princípios ativos, todos pertencentes ao grupo MBC. Resistência cruzada a MBCs é comum entre espécies fúngicas e amplamente reportada na literatura, uma vez que os mecanismos que governam a resistência fúngica aos fungicidas MBC são similares (Davidson et al. 2006; Ma e Michailides 2005). Na maioria dos casos estudados, a principal causa desse fenômeno consiste no mecanismo de resistência ser um ponto de mutação do gene β -tubulina (Ma e Michailides 2005). Embora os pomares de mamoeiro onde as populações A, B e D de *L. theobromae* foram obtidas também tenham sido submetidos à aplicação de tiofanato metílico, nestas não foram detectados isolados não sensíveis a esse fungicida. Alelos resistentes são muitas vezes raros ou inexistentes em populações de fungos antes da utilização de um determinado fungicida, porém, podem surgir após a aplicação de fungicidas. A velocidade das mudanças causadas pela resistência é determinada pela epidemiologia do patógeno e a frequência ou duração da pressão de seleção aplicada (Brent e Hollomon 2007a; Brent e Hollomon 2007b; Ma e Michailides 2005). Portanto, a população E pode ter sido submetida à pressão de seleção pelo uso frequente e ao longo do tempo de tiofanato metílico e outros MBCs para o controle de *L. theobromae* ou outros patógenos.

O valor médio de CE₅₀ dos isolados sensíveis a tiofanato metílico (1,87 µg ml⁻¹) foi mais elevado que os constatados por Pereira et al. (2012) em populações de *L. theobromae* sensíveis a benomil (0,083 µg ml⁻¹) e thiabendazole (0,765 µg ml⁻¹).

Informações sobre os componentes de adaptabilidade de fungos resistentes e sensíveis a fungicidas são úteis para evitar o desenvolvimento da resistência e nas estratégias de manejo

das doenças (Antonovics e Alexander 1989; Ma e Michailides 2005). Adaptabilidade é uma medida da produção total de descendência viável por um indivíduo em sua vida (McDonald, 2004). Resistência a fungicidas, por si só, é um condicionador de adaptabilidade importante nos campos em que os fungicidas são aplicados. Neste cenário, os indivíduos não sensíveis estão em vantagem porque superam a "barreira seletiva" exercida pelo uso de fungicida, completando assim seu ciclo de vida e deixando mais descendentes do que os indivíduos sensíveis. Contudo, a resistência pode ter um custo de adaptabilidade, em que na ausência de uma "barreira seletiva" os indivíduos resistentes possuem menor habilidade competitiva. Em outras palavras, a resistência pode ter um efeito pleiotrópico, resultando em menor adaptabilidade e fazendo com que a frequência de isolados não sensíveis decline quando a pressão de seleção do fungicida for descontinuada no campo (Ma e Michailides 2005). Diferenças consideráveis foram detectadas entre os extremos de sensibilidade a tiofanato metílico, mas não houve nenhuma evidência ligando níveis de sensibilidade dos isolados de *L. theobromae* com a taxa de crescimento micelial, temperatura ótima para crescimento micelial, produção de picnídios, germinação de esporos, sensibilidade osmótica e virulência em frutos do mamoeiro. De maneira similar, Pereira et al (2012) não constataram diferenças na taxa de crescimento micelial e na virulência em frutos do mamoeiro entre isolados de *L. theobromae* sensíveis e não sensíveis a benomil e tiabendazole. O único componente de adaptabilidade de *L. theobromae* afetado pela sensibilidade ao fungicida nesse estudo foi produção de esporos, uma vez que isolados não sensíveis apresentaram capacidade de esporulação significativamente inferior aos isolados sensíveis, indicando um custo de adaptabilidade.

Os isolados de *L. theobromae* não sensíveis a tiofanato metílico foram coletados no principal pólo de produção de mamão para exportação do Brasil, localizado no estado do Rio Grande do Norte. Isso torna os resultados ainda mais preocupantes em termos de possíveis impactos econômicos decorrentes da predominância de isolados não sensíveis a MBCs e ineficácia do controle da doença baseado na aplicação desses fungicidas.

Referências

- Antonovics J., & Alexander H. M. (1989). The concept of fitness in plant fungal pathogen systems. In K. J. Leonard, & W. E. Fry (Eds.), *Plant disease epidemiology* (pp. 185–214). New York: McGraw-Hill.
- Anuário Brasileiro da Fruticultura (2012). Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta.
- Avenot, H. F., & Michailides, T. J. (2010). Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. *Crop Protection*, 29, 643–651.
- Brent, K. J., & Hollomon, D. W. (2007a). *Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed?* Brussels: Fungicide Resistance Action Committee.
- Brent, K. J., & Hollomon, D. W. (2007b). *Fungicide resistance: The assessment of risk*. Brussels: Fungicide Resistance Action Committee.
- Brito Netto, M. S. (2012). Espécies de *Lasiodiplodia* associadas à podridão peduncular em mamão no Nordeste do Brasil. Dissertação. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.
- Dantas, S. A. F., & Oliveira, S. M. A. (2006). Doenças do mamão. In S. M. A. Oliveira, D. Terao, S. A. F. Dantas, & S. C. C. H. Tavares (Eds.), *Patologia pós-colheita: Frutas, olerícolas e ornamentais tropicais* (pp. 695–729). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica.
- Dantas, S. A. F., Oliveira, S. M. A., Michereff, S. J., Nascimento, L. C., Gurgel, L. M. S., & Pessoa, W. R. L. S. (2003). Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. *Fitopatologia Brasileira*, 28, 528–533.
- Davidson, R. M., Hanson, L. E., Franc, G. D., & Panella, L. (2006). Analysis of β -tubulin gene fragments from benzimidazole-sensitive and -tolerant *Cercospora beticola*. *Journal of Phytopathology*, 154, 321–328.
- FAO (2013). Resource document. <http://faostat.fao.org>. Accessed on 15 January 2013.

- FRAC (2013). FRAC List of plant pathogenic organisms resistant to disease control agents. Resource document. http://www.frac.info/publication/anhang/List-of-resistant-plant-pathogens_2013.pdf. Accessed on 15 January 2013.
- Freire, F. C. O., Viana, F. M. P., Cardoso, J. E., & Santos, A. A. (2004). *Novos hospedeiros do fungo Lasiodiplodia theobromae no Estado do Ceará—Comunicado Técnico*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical.
- Ghini, R., & Kimati, H. (2000). *Resistência de fungos a fungicidas*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente.
- Kuck, K.-H., Leadbeater, A., & Gisi, U. (2012). FRAC mode of action classification and resistance risk of fungicides. In W. Krämer, U. Schirmer, P. Jeschke & M. Witschel (Eds.) *Modern crop protection compounds*, 2nd ed. (pp. 539–558). Weinheim: Wiley-VCH Verlag.
- Ma, Z., & Michailides, T. J. (2005). Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Protection*, 24, 853–863.
- MAPA. (2013). Agrofit - Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Resource database. http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Accessed on 15 January 2013.
- May-De Mio, L. L., Luo, Y., & Michailides, T. J. (2011). Sensitivity of *Monilinia fructicola* from Brazil to tebuconazole, azoxystrobin, and thiophanate-methyl and implications for disease management. *Plant Disease*, 95, 821–827.
- McDonald, B. A. (2004). *Populations genetics of plant pathogens*. The Plant Health Instructor. DOI 10.1094/PHI-A-2004-0524-01.
- Ministério da Integração Nacional. (2000). Frutiséries. Resource document. <http://www.mi.gov.br/infrastrukturahidrica/publicacoes/frutiserias.asp>. Accessed on 0 January 2013.

- Paull, R. E., Nishijima, W., Reyes, M., & Cavaletto, C. C. (1997). Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). *Postharvest Biology and Technology*, *11*, 165–179.
- Peever, T. L., & Milgroom, M. G. (1994). Lack of correlation between fitness and resistance to sterol biosynthesis-inhibiting fungicides in *Pyrenophora teres*. *Phytopathology*, *84*, 515–519.
- Pereira, A. V. S., Martins, R. B., Michereff, S. J., Silva, M. B., & Câmara, M. P. S. (2012). Sensitivity of *Lasiodiplodia theobromae* from Brazilian papaya orchards to MBC and DMI fungicides. *European Journal of Plant Pathology*, *132*, 489–498.
- Ritzinger, C. H. S. P., & Souza, J. S. (2000). *Mamão: Fitossanidade*. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia.
- Santana, E. M., Martins, M. V. V., Lima, I. M., Costa, H., Ventura, J. A., & Vieira, P. (2007). Manejo das doenças do mamoeiro. In: Núcleo de Estudos em Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (Ed.), *Manejo integrado de doenças de fruteiras* (pp. 107–112). Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia.
- Silva, J. A. T., Rashid, Z., Nhut, D. T., Sivakumar, D., Gera, A., Souza Jr., M. T., & Tennant, P. F. (2007). Papaya (*Carica papaya* L.): Biology and biotechnology. *Tree and Forestry Science and Biotechnology*, *1*, 47–63.
- Skylakakis, G. (1987) Changes in the composition of pathogen populations caused by resistance to fungicides. In W. S. Wolfe, & C. E. Caten (Eds.), *Populations of plant pathogens: Their dynamics and genetics* (pp 222–237). Oxford: Blackwell Scientific.
- Slippers, B., Crous, P. W., Denman, S., Burgess, T., Coutinho, T. A., Wingfield, B. D., & Wingfield, M. J. (2004). Combined multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate several species previously identified as *Botryosphaeria dothidea*. *Mycologia*, *96*, 83–101.
- Spalding, D. H. (1982). Resistance of mango pathogens to fungicides used to control postharvest diseases. *Plant Disease*, *66*, 1185–1186.

Ventura, J. A., Costa, H., Tatagiba, J. S. (2003). Manejo das doenças do mamoeiro. In: D. S. Martins, & A. F. S. Costa (Eds.), *A cultura do mamoeiro: Tecnologias de produção* (pp. 231–307). Vitória: Incaper.

Viana, F. M. P., Cardoso, J. E., Souza, R. N. M., & Holanda, V.O. (2007). *Controle da podridão-da-haste-do-mamoeiro no estado do Ceará – Comunicado Técnico*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical.

Tabela 1 Populações de isolados de *Lasiodiplodia thebromae* coletados em pomares de mamoeiro no Nordeste brasileiro, localizados nos estados da Bahia (BA), Pernambuco (PE), Paraíba (PB) e Rio Grande do Norte (RN), com indicação dos fungicidas utilizados para o controle das doenças

População ^a	Município	No. de isolados	Ingrediente ativo utilizado ^b
A	Petrolina (PE), Juazeiro (BA)	25	tebuconazole ² , tiofanato metílico ¹ , mancozeb ⁴ , oxicloreto de cobre ⁴
B	Amaraji (PE)	10	mancozeb ⁴ , tebuconazole ² , tiofanato metílico ¹
C	Goiana (PE), Pitimbu (PB)	10	nenhum
D	Conde (PB), Santa Rita (PB)	31	azoxystrobin ³ , difenoconazole ² , tiofanato metílico ¹ , oxicloreto de cobre ⁴
E	Parnamirin (RN), São José do Mipibu (RN)	33	azoxystrobin ³ , difenoconazole ² , mancozeb ⁴ , pyraclostrobin ³ , tebuconazole ² , tiofanato metílico ¹

^a Cada população foi definida com base na distância geográfica entre os pomares de origem dos isolados

^b Grupos: metil benzimidazole carbamatos – MBC (1), inibidores da demetilação – DMI (2), inibidores da quinona – QoI (3) e protetores (4)

Tabela 2 Comparação da concentração efetiva de tiofanato metílico para inibir 50% do crescimento micelial (CE_{50}) entre cinco populações de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* coletados em pomares de mamoeiro do Nordeste brasileiro

População ^a	CE_{50} ($\mu\text{g i.a ml}^{-1}$) ^b
A (Petrolina-PE, Juazeiro-BA)	2,16 b ($\pm 0,098$)
B (Amaraji-PE)	1,99 bc ($\pm 0,155$)
C (Goiana-PE, Pitimbu-PB)	1,48 d ($\pm 0,155$)
D (Conde-PB, Santa Rita-PB)	1,72 cd ($\pm 0,088$)
E (Parnamirin-RN, São José do Mipibu-RN)	>300 a ($\pm 732,542$)

^a Cada população foi definida com base na distância geográfica entre os pomares de origem dos isolados

^b Valores ($\mu\text{g i.a ml}^{-1}$) seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste LSD de Fisher ($P=0.05$). Valores (\pm) nos parênteses representam os erros padrões

Tabela 3. Comparação na taxa de crescimento micelial, sensibilidade osmótica, temperatura ótima para o crescimento micelial, produção de picnídios e conídios, taxa de germinação de esporos, e virulência entre os isolados sensíveis (S) e não sensíveis (NS) de *Lasiodiplodia theobromae* a tiofanato metílico de mamoeiros.

Classe ^a	Taxa de crescimento micelial (mm/h) ^b	Sensibilidade osmótica ($CE_{50}\text{NaCl}$) ^b	Temperatura para o ótimo crescimento micelial ($^{\circ}\text{C}$) ^b	Produção de picnídios/placa ^b	Produção de conídios/ mL ^b	Taxa de germinação de esporos (%) ^b	Virulência (diâmetro da lesão em mm) ^b
Sensível (S)	1,2 a	2,8 a	29,0 a	33,6 a	$8,2 \times 10^3$ b	55,2 a	14,9 a
Não sensível (NS)	1,3 a	2,8 a	28,4 a	23,9 a	$2,6 \times 10^3$ a	66,3 a	14,6 a
P	0,2803	0,6778	0,3263	0,2708	0,0171	0,3831	0,9065

^a Cada classe é composta de 10 isolados, selecionados pelos valores menores e maiores de CE_{50} .

^b Valores dentro da coluna seguidos pela mesma letra não diferem significativamente de acordo com o teste de Student ($P=0,05$). Valores (\pm) em parênteses representam o erro padrão.

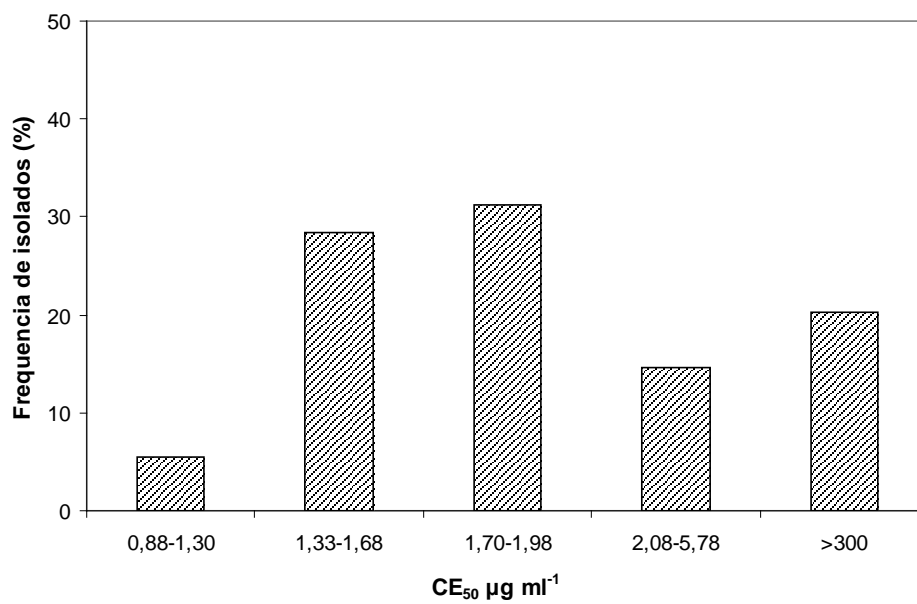


Fig. 1 Distribuições de frequência de concentrações efetivas de tiofanato metílico para inibir 50% do crescimento micelial (CE₅₀) de 109 isolados de *Lasiodiplodia theobromae* coletados em pomares de mamoeiros no Nordeste brasileiro

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

1. Populações de *L. theobromae* de mamoeiros do Nordeste brasileiro diferem na sensibilidade a tiofanato metílico;
2. Nenhuma evidência sólida foi encontrada ligando níveis de sensibilidade dos isolados de *L. theobromae* com taxa de crescimento micelial, produção de picnídios, germinação de esporos, sensibilidade osmótica e virulência em frutos de mamoeiro;
3. Há indicação da existência de um custo de adaptabilidade dos isolados não sensíveis, pois esses apresentaram menor capacidade de esporulação comparado aos isolados sensíveis.