



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



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**Efeito hormese e manejo de isolados de *Lasiodiplodia
theobromae* resistentes a tiofanato-metílico**

Erivaldo Laurentino da Silva

**Recife – PE
2020**

ERIVALDO LAURENTINO DA SILVA

Efeito hormese e manejo de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* resistentes a tiofanato-metílico

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:

Orientador: Ueder Pedro Lopes

Coorientadora: Carla D. Garzón

RECIFE-PE

FEVEREIRO - 2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586e

Silva, Erivaldo Laurentino da
Efeito hormese e manejo de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* resistentes a tiofanato-metílico / Erivaldo
Laurentino da Silva. - 2020.
51 f. : il.

Orientador: Ueder Pedro Lopes.
Coorientador: Carla D. Garzon.
Inclui referências e apêndice(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia,
Recife, 2020.

1. Carica papaya. 2. Botryosphaeriaceae. 3. Fungicida. 4. Resistência. I. Lopes, Ueder Pedro, orient. II. Garzon,
Carla D., coorient. III. Título

CDD 632

Efeito hormese e manejo de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* resistentes a tiofanato-metílico

ERIVALDO LAURENTINO DA SILVA

Dissertação aprovada pela Banca Examinadora em: 17/02/2020

ORIENTADOR: Ueder Pedro Lopes (UFRPE)

EXAMINADORES:

**RECIFE-PE
FEVEREIRO-2020**

DEDICATÓRIA

*A Deus, por não me desamparar e servir de alicerce.
À minha família e aos amigos, pelo apoio.
A todos aqueles que, de algum modo, dedicaram com palavras ou ações o seu tempo, atenção
e carinho e me incentivaram a continuar mesmo diante das adversidades,
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e oportunidade de viver a pós-graduação.

Aos meus pais e amigos, Antônio (Toinho) e Inês, que sem medir esforços fizeram o que estava ao seu alcance para que eu chegasse até aqui e com condições de seguir em frente. Aos meus irmãos, José (Painha) e Manoel (Ném) que mesmo longe sempre torceram por mim. À minha irmã, a quem tanto amo e que sempre fez o necessário para que eu estivesse bem. A todos meus familiares, especialmente minhas tias (Ana, “Xoxinha” e Corina) e minha avó “Dona Zefa”. À dona Dalva, sempre apoiando e sendo como uma mãe para mim. Ao meu compadre e amigo Grimário, meus amigos Bio, Gean, Adelmo, Diogo, Nadja, Valter, Cleide, Lígia e todos os amigos que me apoiaram e torceram por mim. À dona Dida e sua família, que sempre torceram por mim. Agradeço também a Suzilaine (Suzy), Mayara, Gabi e Alejandro, amigos que durante a fase inicial de meus estudos na pós sempre me apoiaram e tornaram menos árdua a difícil tarefa de viver a pós-graduação.

Ao meu antigo professor Severino Lúcio Lira, que me inspirou em uma de suas aulas, quando eu disse: “Professor, um dia, eu quero saber 5% do que o senhor sabe. Porque aí, sei que vou ser feliz.” E me respondeu: “*Erik*, um dia você saberá muito mais que eu”. Graças a suas palavras, eu me apaixonei por estudar e hoje o faço com prazer e amor.

Ao meu professor, orientador e amigo, Dr. Ueder Lopes. Agradeço pela paciência, orientação e toda aprendizagem que consegui ao seu lado, por me orientar em sua excelência, sempre disponível, respeitoso e prestativo, e fazendo com que eu nunca desanimasse.

Aos professores Dr. Alexandre Machado e Dr. Jonas Rios, pela disponibilidade e prestatividade em participar da comissão avaliadora.

À Dra. Rejane Freitas Lopes, pelo apoio e prestatividade nas correções deste trabalho.

Ao Laboratório de Fitopatologia, em especial à Carol, Rayanne, Gabi, Janisson, Evair e Eduardo pela amizade e companheirismo, fazendo ser mais prazeroso o meu trabalho. De modo especial, agradeço a Alberto e Renata, sem eles este trabalho não seria realizado.

Ao Laboratório de Biotecnologia, na pessoa do professor Renato Molica, pelo apoio sempre que necessário.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, pela oportunidade de realizar o meu mestrado.

Por fim, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa de estudo e possibilitar a realização deste trabalho.

A todos, muito obrigado.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| RESUMO GERAL..... | 10 |
| GENERAL ABSTRACT | 11 |
| Capítulo I..... | 12 |
| Introdução Geral..... | 12 |
| Efeito hormese e manejo de isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> resistentes a tiofanato-metílico: . | 13 |
| INTRODUÇÃO GERAL | 13 |
| REVISÃO DE LITERATURA | 15 |
| Podridão penducular e seu manejo | 15 |
| Resistência de fungos a fungicidas e seu manejo | 16 |
| Efeito hormese de fungicidas em fungos fitopatogênicos | 17 |
| Referências | 20 |
| Capítulo II | 24 |
| Efeito hormese e manejo da resistência a tiofanato-metílico em isolados de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> | 24 |
| Introdução | 27 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 29 |
| Obtenção dos isolados | 29 |
| Sensibilidade dos isolados a diferentes fungicidas <i>in vitro</i> | 29 |
| Eficácia de controle de fungicidas registrados em pós-colheita de mamão sobre podridões causadas por isolados de R e S | 30 |
| Eficácia de fungicidas registrados para doenças foliares e fungicidas não registrados para a cultura do mamão no controle de isolado resistente | 31 |
| Efeito de doses subinibitórias de tiofanato-metílico sobre o crescimento micelial de <i>L. theobromae</i> | 32 |
| Efeito de doses subinibitórias de TM sobre a agressividade de <i>L. theobromae in situ</i> | 33 |
| RESULTADOS..... | 34 |
| Sensibilidade dos isolados de <i>L. theobromae</i> a diferentes fungicidas <i>in vitro</i> | 34 |
| Eficácia de fungicidas registrados para tratamento em pós-colheita de mamão no controle de podridão causada por isolados de <i>L. theobromae</i> R e S | 36 |
| Eficácia de fungicidas registrados para doenças foliares e fungicidas não registrados para a cultura do mamão no controle de isolado resistente | 36 |
| Hormese induzida por tiofanato-metílico em isolados R | 37 |
| Efeito de subdoses de tiofanato-metílico sobre a agressividade de <i>L. theobromae</i> | 38 |
| DISCUSSÃO..... | 38 |
| CONCLUSÕES..... | 40 |
| REFERÊNCIAS..... | 41 |

RESUMO GERAL

A podridão peduncular, causada por *Lasiodiplodia theobromae*, é uma das principais doenças do mamoeiro (*Carica papaya*) e tem sido detectada resistência ao fungicida tiofanato-metílico em isolados deste patógeno, no Nordeste brasileiro. Diante disso, objetivou-se com este estudo avaliar a sensibilidade de isolados resistentes de *L. theobromae* e a eficácia de diferentes fungicidas, e investigar os efeitos da hormese induzida por fungicida nas populações do patógeno, visando buscar alternativas para o manejo desta importante doença. Foram realizados ensaios *in vitro* e *in situ*, utilizando fungicidas registrados e não registrados para a cultura. Fungicidas inibidores da desmetilação foram mais eficientes em controlar isolados resistentes *in vitro*, sendo que imazalil, metconazol e tebuconazol foram eficientes também no controle das podridões. Por outro lado, o fungicida tiabendazol, registrado para controle da doença em pós-colheita, foi ineficiente em controlar podridões causadas pelo isolado resistente, além proporcionar um aumento na sua agressividade. Foram observados estímulos induzidos por tiofanato-metílico sobre o crescimento micelial e a agressividade do isolado resistente. A ineficácia de controle observada neste estudo, aliada à ocorrência de estímulo de crescimento e agressividade do patógeno na presença dos fungicidas, apontam a necessidade de buscar estratégias para o manejo da doença em áreas com histórico de resistência. O fungicida imazalil, registrado para pós-colheita do mamão, é uma boa opção para o controle de isolados de *L. theobromae*. Metconazol e tebuconazol, embora não registrados para a cultura, apresentam potencial para o manejo da doença em áreas com histórico de resistência a tiofanato-metílico.

Palavras-chave: *Carica papaya*, Botryosphaeriaceae, fungicida, resistência

GENERAL ABSTRACT

Peduncular rot caused by *Lasiodiplodia theobromae* is one of the main diseases in papaya crop (*Carica papaya*) and resistance to the fungicide thiophanate-methyl has been found in isolates of this pathogen in Brazilian Northeast. Therefore, the aim of this study was to evaluate the sensitivity of *L. theobromae* resistant isolates and the effectiveness of different fungicides, and to investigate the hormesis effect induced by fungicide in populations of the pathogen, aiming at alternatives to manage this important disease. *In vitro* and *in situ* assays were performed, using fungicides that are registered and not registered for papaya crop. Demethylation inhibitors fungicides were more effective to control resistant isolates *in vitro*, and imazalil, metconazole and tebuconazole were also effective to control the rot. On the other hand, thiabendazole registered to control the disease in postharvest was ineffective in controlling rot caused by the resistant isolate, besides providing an increase in its aggressiveness. Stimuli induced by thiophanate-methyl on mycelial growth and the aggressiveness of the resistant isolate were observed. The ineffectiveness of control observed in this study associated with the occurrence of stimuli on mycelial growth and pathogen aggressiveness in the presence of fungicides indicates the need for new strategies to manage the disease in areas with a history of resistance. The fungicide imazalil, registered for postharvest of papaya, is a good option to control *L. theobromae* isolates. Metconazole and tebuconazole, although not registered for this crop, have potential to manage the disease in areas with a history of resistance to thiophanate-methyl.

Keywords: *Carica papaya*, Botryosphaeriaceae, fungicide, resistance

Capítulo I

Introdução Geral

Efeito hormese e manejo de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* resistentes a tiofanato-metílico:

INTRODUÇÃO GERAL

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma cultura amplamente difundida em várias regiões do mundo, sendo cultivado nas mais variadas condições edafoclimáticas (MARIN et al., 1995). Com uma produção de 1.060.392 toneladas no ano de 2018, o Brasil é o segundo maior produtor mundial e um dos principais exportadores, sendo a produção concentrada nos estados do Nordeste, principalmente Bahia, Ceará e Rio Grande do Norte. As cultivares mais utilizadas no Brasil pertencem aos grupos Formosa e Solo, destinadas à comercialização no mercado interno ou para exportação (IBGE, 2020; EMBRAPA, 2020).

A cultura do mamão é afetada por diversas doenças que podem, por vezes, limitar a produção. Dentre as doenças do mamoeiro, as que ocorrem em frutos têm grande importância, pois podem inviabilizar o produto comercial (AMORIM; REZENDE; BERGAMIN FILHO, 2018). Além de patógenos como *Colletotrichum* spp. e *Phytophthora* spp., espécies da família Botryosphaeriaceae têm sido associadas à podridão em frutos, e a espécie *Lasiodiplodia theobromae* tem sido frequentemente encontrada em frutos provenientes de áreas de cultivo no Nordeste brasileiro (NETTO et al. 2014; DANTAS et al, 2003; ROCHA et al, 2015).

O manejo da podridão é essencial para o sucesso da cultura, possibilitando a comercialização dos frutos para áreas distantes dos centros de produção. As práticas de manejo desta doença envolvem os cuidados com manuseio e armazenamento, bem como a utilização de fungicidas no campo e em pós-colheita. No Brasil, apenas dois ingredientes ativos são registrados para controle de doenças em pós-colheita: tiabendazol e imazalil. No entanto, sabe-se que populações de *L. theobromae* são expostas a outros fungicidas, que são utilizados para o controle de outras doenças na cultura, como oídio, antracnose e varíola (TATAGIBA et al, 2001; NOGUEIRA et al, 2011; TAVARES; SOUZA, 2005).

Uma crescente preocupação diz respeito ao surgimento de populações resistentes aos fungicidas utilizados no controle de doenças de plantas. Esta resistência consiste em uma característica herdável, que confere aos isolados uma redução da sensibilidade aos fungicidas, com conseqüente redução na eficácia de controle. Diferentes mecanismos podem conferir esta característica, incluindo alteração no sítio-alvo do fungicida, detoxificação da molécula, superexpressão enzimática, e exclusão ou expulsão da molécula fungicida (FRAC, 2020). Em pesquisas recentes, foi relatada a resistência ao fungicida tiofanato-metílico em isolados de *L. theobromae* provenientes de áreas de cultivo de mamão no Nordeste brasileiro

(CAVALCANTE et al., 2014), a qual foi conferida por uma mutação no gene da β -tubulina (CHEN et al., 2019).

A presença de isolados resistentes em uma população traz preocupações relacionadas ao manejo da doença, pois, além de haver redução na eficácia de controle dos fungicidas, estes isolados podem apresentar estímulo no seu desenvolvimento e agressividade quando expostos a baixas doses de fungicidas (CONG et al, 2018; DI et al, 2015). Este fenômeno, conhecido como hormese, ainda não foi relatado em populações de *L. theobromae*, porém, pode ter implicações desastrosas no manejo da podridão peduncular em áreas onde a resistência já foi relatada. Desta forma, torna-se essencial avaliar a sensibilidade de isolados aos fungicidas comumente utilizados na cultura e investigar seu efeito na indução da hormese nas populações do patógeno, visando à busca de alternativas para o manejo desta importante doença do mamoeiro.

REVISÃO DE LITERATURA

Podridão peduncular e seu manejo

No Brasil, a podridão peduncular é uma das principais doenças na cultura do mamoeiro, depreciando os frutos destinados aos mercados nacionais e internacionais. Esta doença é causada por um complexo fúngico, destacando-se a espécie *L. theobromae*, que possui rápido crescimento e pode causar apodrecimento e mumificação dos frutos (REZENDE; MARTINS, 2005).

O processo infeccioso tem início ainda no campo de produção, com lesões inicialmente encharcadas nas margens da base do pedúnculo. Em seguida, surge um abundante micélio esbranquiçado, que escurece devido à formação de estruturas reprodutivas (picnídios em estromas). A disseminação do fungo ocorre por ação do vento, chuva e insetos, e sua penetração ocorre principalmente por meio de ferimentos (TAVARES, 2002). A elevada umidade em épocas de maior índice pluviométrico faz com que a incidência da doença possa atingir 100%, caso não sejam adotadas medidas de controle (SANTANA et al., 2007).

O controle de doenças causadas por *L. theobromae* é difícil de ser executado, principalmente devido à ampla gama de hospedeiros (CARDOSO et al., 2009; AMORIM et al., 2016). Além disso, tem sido demonstrado que isolados mais agressivos apresentam maior capacidade de crescimento saprofítico (LIMA et al., 2013), o que, associado a sua inespecificidade com hospedeiro, pode ter implicações sobre seu manejo. Também é válido salientar que este patógeno apresenta um comportamento endofítico (MOHALI; BURGESS; WINGFIELD; 2005), o que dificulta sua detecção no agroecossistema e, conseqüentemente, o seu manejo.

O manejo da podridão peduncular é realizado principalmente de modo preventivo. As medidas de manejo da doença envolvem pulverizações em pomares e em pós-colheita, tratamento hidrotérmico e armazenamento dos frutos sob condições que desfavoreçam o desenvolvimento da doença (REZENDE; MARTINS, 2005).

No tratamento com uso de fungicidas, normalmente são empregados os pertencentes aos grupos dos benzimidazóis e triazóis. No Brasil, apenas tiabendazol e imazalil são registrados para controle de doenças em pós-colheita, enquanto flutriafol, difenoconazol, piraclostrobina e tiofanato-metílico são registrados para pulverizações em campo. Portanto, as populações do fungo estão constantemente expostas a estes fungicidas, o que pode acarretar em falhas de controle no campo, principalmente pelo uso de doses inadequadas. Além disso, sabe-se que populações de *L. theobromae* são expostas a diferentes fungicidas,

uma vez que são realizadas aplicações para o controle de outras doenças, como oídio, podridão parda, antracnose, etc. (AGROFIT, 2020). Tem sido detectada e caracterizada a resistência ao fungicida tiofanato-metílico em isolados de *L. theobromae* provenientes de áreas de cultivo de mamão do Nordeste brasileiro (CAVALCANTE et al., 2014). Nestes casos, é possível que isolados resistentes, provenientes do campo, sejam novamente expostos aos fungicidas durante o tratamento em pós-colheita dos frutos, resultando em ineficácia de controle.

Resistência de fungos a fungicidas e seu manejo

A resistência de fungos aos fungicidas não é um fenômeno recente, sendo conhecido e debatido desde 1970 e, atualmente, inúmeros casos têm sido reportados para diferentes grupos químicos e em diferentes espécies de fungos fitopatogênicos (ISHII, 2006; DEISING; REIMANNL; PASCHOLATI, 2008). A resistência pode ser de três tipos: cruzada, cruzada negativa e múltipla. A resistência cruzada é confirmada quando o fungo apresenta resistência simultânea a outro fungicida do mesmo grupo químico. A cruzada negativa consiste no aumento da sensibilidade a outro(s) fungicida(s), seja do mesmo grupo químico ou não. Por fim, a resistência múltipla, na qual o fungo apresenta resistência a fungicidas de grupos químicos diferentes (BRENT; HOLLOMON, 2007).

Embora a resistência possa ocorrer com todos os diferentes grupos de fungicidas, sabe-se que os fungicidas com modo de ação específico são mais propensos a esse fenômeno, havendo um maior número de relatos na literatura e de modo contrário, a ocorrência de resistência a mais de um fungicida é pouco relatada, o que pode estar relacionado ao custo da resistência, uma vez que a expressão da resistência a determinado fungicida pode afetar a capacidade de sobrevivência do fungo (ESTERIOR et al., 2017).

Fungicidas do grupo MBC (Metil Benzimidazol Carbamato) têm ação sobre a mitose e divisão celular fúngica, inibindo a montagem dos microtúbulos, por meio da ligação com a β -tubulina. Por apresentarem modo de ação específica, são considerados de alto risco para o surgimento de resistência (KIM et al., 2007; BRENT; HOLLOMON, 2007).

Em estudos recentes conduzidos com populações de *L. theobromae* provenientes do estado do Rio Grande do Norte, no Nordeste brasileiro, foi verificada a resistência ao fungicida tiofanato-metílico, a qual foi associada a uma mutação do gene β -tubulina em isolados com altos índices de insensibilidade a este fungicida (CAVALCANTE et al., 2014; CHEN et al., 2019). Além disso, foi detectada alteração na sensibilidade aos fungicidas

azoxistrobina (CHEN et al., 2019) e difenoconazol, além da resistência cruzada com propiconazol (LI et al., 2019). Estes achados evidenciam a importância de um melhor manejo de populações resistentes, bem como a necessidade da elaboração de novas estratégias que possibilitem o convívio com isolados resistentes (HOBBELEN; PAVELEY; BOSH, 2014; LOPES et al, 2017).

Diante da possível inviabilização do uso de fungicidas, em função da emergência de populações resistentes aos fungicidas aplicados, o manejo da resistência se torna um ponto essencial. A redução na dose e/ou frequência de aplicação, bem como a rotatividade de ingredientes ativos, são estratégias que podem auxiliar na redução da emergência da resistência (BRENT; HOLLOMON, 2007; JORGENSEN et al., 2017). Além disso, é essencial o acompanhamento constante do comportamento da população do patógeno em relação ao fungicida, por meio de avaliações da sensibilidade e da eficácia da aplicação.

O manejo da resistência a fungicidas do grupo MBC tem sido realizado principalmente pela rotação de ingredientes ativos e pelo uso de misturas, especialmente com fungicidas com modo de ação multissítio. No entanto, é reconhecido que, uma vez estabelecida a resistência a MBCs, esta dificilmente será revertida, devendo-se conviver com os isolados resistentes, por meio da adoção de medidas que possam minimizar sua frequência na população (BRENT; HOLLOMON, 2007).

Efeito hormese de fungicidas em fungos fitopatogênicos

O efeito hormese de fungicidas em fungos fitopatogênicos consiste no estímulo de crescimento causado por baixas doses e na inibição por doses elevadas de fungicidas (FLORES; GARZÓN, 2013). Vários fatores, como capacidade de penetração de fungicidas, forma e local de aplicação e o modelo agrícola adotado, podem gerar uma dose subinibitória, ou seja, abaixo do limiar de inibição (SILVA; FREITAS-LOPES; LOPES, 2018). Acredita-se que este fenômeno seja comum na natureza, uma vez que vários fatores podem levar à exposição das populações de patógenos a baixas doses do fungicida, como: penetração deficiente no dossel das plantas, diluição no tecido dos vegetais, volatilização ou degradação do produto, aplicação de dose reduzida ou aplicação retardada, entre outros (ANDERSSON; HUGHES, 2014; AMARADASA; EVERHART, 2016).

A exposição de patógenos a doses subinibitórias de fungicidas pode ser comum nos sistemas agrícolas mesmo sem a aplicação direta de fungicidas e, embora isso possa trazer consequências desastrosas sobre a produção e produtividade agrícolas, os seus efeitos ainda

têm sido pouco discutidos (SILVA; FREITAS-LOPES; LOPES, 2018). Em estudos de eficácia ou de resistência de fungos e oomicetos a fungicidas é comum se observar diferentes estímulos quando os organismos são expostos a doses subinibitórias. Porém, na maioria das vezes, o fenômeno é simplesmente negligenciado ou tratado como erro experimental, uma vez que os efeitos abaixo do Nível de Efeito Adverso Não Observável (NOAEL), onde não é detectado nenhum efeito inibitório sobre o organismo, raramente são levados em consideração (GARZON et al, 2011).

Embora a natureza do fenômeno seja ainda pouco conhecida, dois mecanismos são relatados como responsáveis por sua ocorrência: sobrecompensação e estimulação direta. A sobrecompensação por interrupção da homeostase fúngica implica na necessidade de uma estimulação externa, indicando que a adaptação ao novo meio requer síntese proteica (STEBBING, 1982; DAVIES, LOWRY; DAVIES, 1994). Já a estimulação direta, também chamada adaptação induzida, proposta por Warren (1945), é o estímulo provocado sem quebra da homeostase, isto é, sem ocorrer um dano inicial no organismo que afete o seu equilíbrio dinâmico e todo o processo ocorre dentro das variações normais do metabolismo, tendo apenas que se adaptar ao fungicida presente no meio (CALABRESE; BALDWIN, 2002).

Na fitopatologia, o fenômeno tem sido observado em oomicetos, como *Phytophthora infestans* (ZHANG; PANACCIONE; GALLEGLY, 1997), *Pythium* e *Globisporangium* spp. (FLORES; GARZÓN, 2013; GARZÓN et al., 2011; MOORMAN; KIM, 2004; PRADHAN-SHRESTHA et al., 2018) e em fungos, como *Sclerotinia sclerotiorum* (ZHOU et al., 2014) e *Fusarium virgulliforme* (NOEL; WANG; CHILVERS, 2018; WANG; DUAN; ZHOU, 2015). Estímulos de crescimento de 10 a 25% são comuns no chamado intervalo hormético (intervalo de doses estimulatórias), porém os resultados podem variar entre repetições (DUKE; KUDSK; SOLOMON, 2017; GARZÓN et al., 2011).

Diversos trabalhos têm demonstrado o aumento da intensidade da doença em função da aplicação de baixas doses de fungicida na planta, seguida pela inoculação de isolados do patógeno. Estudos com plântulas de gerânio tratadas com subdoses de mefenoxam e inoculadas com isolados de *Pythium aphanidermatum* resistentes ao fungicida apresentaram aumento de 61% na intensidade de damping-off, quando comparadas a plântulas não tratadas (GARZÓN et al., 2011). A aplicação de doses subinibitórias de dimetaclona ($2 \mu\text{g.mL}^{-1}$) após a inoculação de isolados de *S. sclerotiorum* em plantas de colza (*Brassica napus*), levou a um aumento de 63% na intensidade da doença (ZHOU et al. 2014). Em folhas destacadas de *Brassica napus* (colza), pulverizadas com carbendazim ($0,2$ a $5 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e inoculadas com

dois isolados de *S. sclerotiorum* resistentes ao fungicida, foi verificado um aumento na intensidade da doença de até 31% (DI et al., 2015).

A ocorrência deste fenômeno traz sérias implicações para o manejo de doenças, uma vez que populações de fungos são constantemente expostas a diferentes doses de fungicidas, o que pode resultar na redução da eficácia de controle em função dos diferentes efeitos sobre os fitopatógenos (SILVA; FREITAS-LOPES; LOPES, 2018).

Referências

- AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Consulta de Praga. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso: 09-02-2020 às 11:00.
- AMARADASA, B.S.; EVERHART, S.E. Effects of Sublethal Fungicides on Mutation Rates and Genomic Variation in Fungal Plant Pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. **PLoS ONE**, San Francisco.11(12): e0168079. 2016.
- AMORIM, L., REZENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia-Princípios e Conceitos**. v.1. 5 ed. Ouro Fino: Editora Agronômica Ceres Ltda, 2018. 573p.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. v. 2. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. 772 p.
- ANDERSSON, D.I.; HUGHES, D. Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. **Nature Reviews Microbiology** 12: 465-478. 2014
- BRENT K.J.; HOLLOMON D.W. (2007): Fungicide Resistance in Crop Pathogens: How Can it be Managed? **FRAC Monograph** 1. 2nd Ed. Brussels, CropLife International, Brussels: 55.
- CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Defining hormesis. *Human & Experimental Toxicology*, 21(2), 91–97. 2002. doi:10.1191/0960327102ht217oa.
- CARDOSO, J.E.; BEZERRA, M.A.; VIANA, F.M.P.; SOUSA, T.R.M.; CYSNE, A.Q.; FARIAS, F.C. Ocorrência endofítica de *Lasiodiplodia theobromae* em tecidos de cajueiro e sua transmissão por propágulos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.35, n.4, p.262-266, 2009.
- CAVALCANTE, R.D.; LIMA, W.G.; MARTINS, R.B.; MANUEL TOVAR-PEDRAZA, J.; MICHEREFF, S.J.; CÂMARA, M.P.S. Thiophanate-methyl sensitivity and fitness in *Lasiodiplodia theobromae* populations from papaya in Brazil. **Europe Journal of Plant Pathology**. 140, 251–259. 2014.
- CHEN, F.; TSUJI, S. S.; LI, Y.; HU, M.; BANDEIRA, M. A.; CÂMARA, M. P. S.;SCHNABEL, G. Reduced sensitivity of azoxystrobin and thiophanate methyl resistance in *Lasiodiplodia theobromae* from papaya. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 2019. doi:10.1016/j.pestbp..08.008.
- CONG, M.; HE, S.; MA, H.; LI, G.; ZHU, F. Hormetic effects of carbendazim on the virulence of *Botrytis cinerea*. Huazhong Agricultural University: China. **Plant Disease**. St. Paul. 2018. Doi:<<https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1602-RE>> 1-23.
- DANTAS, S.A.F.; OLIVEIRA, S.M.A.; MICHEREFF, S.J.; NASCIMENTO, L.C.; GURGEL, L.M.S.; PESSOA, W.R.L.S. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**, ISSN 1678-4677. 28:528-533. 2003.
- DAVIES, J. M. S.; LOWRY, C. V.; DAVIES, K. J. A. Transient Adaptation to Oxidative Stress in Yeast. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 317(1), 1–6. 1995. doi:10.1006/abbi.1995.1128.

DEISING, H. B.; REIMANN1, S; PASCHOLATI, S. F. Mechanisms and significance of fungicide resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo. 39:286-295 ISSN 1517-8382. 2008.

DI, YL.; ZHU, Z.Q.; LU, X-M.; ZHU, F-X. Pathogenicity stimulation of *Sclerotinia sclerotiorum* by subtoxic doses of carbendazim. **Plant Disease**. St. Paul. 99: 1342-1346. 2015. DOI: 10.1590 / S1413-70542005000100006

DUKE SO, KUDSK P; SOLOMON K Pesticide Dose: Effects on the Environment and Target and Non-Target Organisms ACS Symposium Series. In: PRADHAN, S.; FLORES, J. F.; MELOUK, H.; WALKER, N. R.; MOLINEROS, J. E.; GARZON, C.D. (Eds.) Chemical Hormesis on Plant Pathogenic Fungi and Oomycetes. **American Chemical Society**: Washington, DC. pp. 122-133. 2017.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Mamão. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/mamao>>. Acesso: 09-02-2020 às 10:20.

ESTERIOLO, M; COPIER, C; ROMÁN, A; ARANEDA, M. J.; RUBILAR, M.; PÉREZ I; AUGER, J. Frequency of fungicide-resistant *Botrytis cinerea* populations isolated from ‘Thompson Seedless’ table grapes in the Central Valley of Chile. **Ciencia e investigación agraria**. 44(3):295-306. 2017. DOI: 10.7764/rcia.v44i3.1721.

FLORES, F.J.; GARZON, C.D. Detection and assessment of chemical hormesis on the radial growth *in vitro* of oomycetes and fungal plant pathogens. **Dose Response** 11:361-373. 2013.

FRAC – Fungicide Resistance Action Committee. How does fungicide resistance evolve? Disponível em: <<https://www.frac.info/fungicide-resistance-management/background>>. Acesso: 09-02-2020 às 11:10.

GARZÓN, C. D.; MOLINEROS, J. E.; YÁNEZ, J. M.; FLORES, F. J.; DEL MAR JIMÉNEZ-GASCO, M.; MOORMAN, G. W. Sublethal Doses of Mefenoxam Enhance Pythium Damping-off of Geranium. **Plant Disease**, St. Paul. 95(10), 1233–1238. 2011. doi:10.1094/pdis-09-10-0693.

HOBBELEN, P.H.F.; PAVELEY, N.D.; BOSCH, V. D. F. The Emergence of Resistance to Fungicides. **PLoS ONE**, San Francisco. 9(3): e91910. 2014. doi:10.1371/ journal.pone.0091910.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. SIDRA. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613#resultado>>.

ISHII, H. Impact of Fungicide Resistance in Plant Pathogens on Crop Disease Control and Agricultural Environment. **Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ**, 40(3), 205–211. 2006. doi:10.6090/jarq.40.205.

JORGENSEN, L. N.; BOSCH, F. V. D.; OLIVER, R. P.; HEICK, T. M.; PAVELEY, N. D. Targeting Fungicide Inputs According to Need. **Annual Review of Phytopathology**, 55(1), 181–203. 2017. doi:10.1146/annurev-phyto-080516-035357.

KIM JH, MIN JY, BAEK YS, BAE YS, KIM HT. Variation of the sensitivity of *Botrytis cinerea* causing ginseng grey mold to fungicides inhibiting β -tubulin assembly. **Plant Disease**. St. Paul. 2007; 13:177–182.

- LI, Y.; TSUJI, S. S.; HU, M.; CÂMARA, M. P. S.; MICHEREFF, S. J.; SCHNABEL, G.; CHEN, F. Characterization of difenoconazole resistance in *Lasiodiplodia theobromae* from papaya in Brazil. **Pest Management Science**. 2019. doi:10.1002/ps.5645.
- LIMA, J.S.; MOREIRA, R.C.; CARDOSO, J.E.; MARTINS, M.V.V.; VIANA, F.M.P. Caracterização cultural, morfológica e patogênica de *Lasiodiplodia theobromae* associado a frutíferas tropicais. **Summa Phytopathologica**, Botucatu. v.39, n.2, p.81-88, 2013.
- LOPES, U.P.; ZAMBOLIM, L.; CAPOBIANGO, N. P.; GRACIA N.A.O.; FREITAS-LOPES, R. L. Resistance of *Botrytis cinerea* to fungicides controlling gray mold on strawberry in Brazil. *Bragantia*, Campinas, v. 76, n. 2, p.266-272, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.055>.
- MARIN, S.L.D.; GOMES, J.A.; SALGADO, J.S.; MARTINS, D.S.; FULLIN, E.A. Recomendações para a cultura do mamoeiro dos grupos Solo e Formosa no Estado do Espírito Santo. 4a. **Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária**, Vitória. 1995. 57 p. (Circular Técnica, n. 3).
- MOHALI, S.; BURGESS, T.I.; WINGFIELD, M.J. Diversity and host association of the tropical tree endophyte *Lasiodiplodia theobromae* revealed using simple sequence repeat markers. **Forest Pathology**, Berlin, v.35, p.385-396, 2005.
- MOORMAN, G.W.; KIM, S.H. Species of *Pythium* from greenhouses in Pennsylvania exhibit resistance to propamocarb and mefenoxam. **Plant Disease**, St Paul.88:630-632. 2004.
- NETTO, MSB, ASSUNÇÃO, IP, LIMA, GSA, MARQUES, MW, LIMA, WG, MONTEIRO, JHA, QUEIROZ BALBINO, V, MICHEREFF, SJ, PHILLIPS, AJL, CÂMARA, MPS. Species of *Lasiodiplodia* associated with papaya stem-end rot in Brazil. **Fungal Diversity**, 67(1), 127–141. (2014) doi:10.1007/s13225-014-0279-4.
- NOEL, Z.A.; WANG, J.; CHILVERS, M.I. Significant Influence of EC50 Estimation by Model Choice and EC50 Type. **Plant Disease**, St Paul.102:708-714. 2018.
- NOGUEIRA, J.T. FERRARI, R.J. DOMINGUES, J.G. TÖFOLI E.M.C. Ação do fungicida flutriafol no controle da varíola na cultura do mamão. **Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.39-42, 2011.
- PRADHAN-SHRESTHA, S.; MILER, L.; MARCILLO, V.; GRACHET, N.G.; MOLINEROS, J.E.; WALKER, N.; MELOUK, H.A.; GARZÓN, C. Hormetic Effects of Thiophanate-Methyl in Multiple Isolates of *Sclerotinia homoeocarpa*. **Plant Disease**, St. Paul. 2018. doi:10.1094/pdis-05-18-0872-re.
- REZENDE, J. A. M.; MARTINS, M. C. Doenças do mamoeiro. In: Kimati, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.) **Manual de Fitopatologia, vol.2: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Ceres, p. 435-443, 2005.
- ROCHA, R. H. C.; CEZAR, M. A.; SATRIO, D. D. S.; SILVA, H. S.; SOUZA, F. A. Características físico-químicas e incidência de patógenos fúngicos em mamão formosa comercializado no sertão paraibano. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.17, n.2, p.199-205, 2015.

- SANTANA, E. N.; MARTINS, M. V. V.; LIMA, I. M.; COSTA, H.; VENTURA, J. A.; VIEIRA, P. Manejo das Doenças do Mamoeiro. In: Núcleo de Estudos em Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras. Manejo Integrado de doenças de fruteiras. Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, p. 107-127, 2007.
- SILVA, E. L. ; FREITAS-LOPES, R. L. ; LOPES, U. P. . Hormese induzida por fungicidas em fungos e oomicetos fitopatogênicos: status atual e perspectivas de pesquisas. **REVISAO ANUAL DE PATOLOGIA DE PLANTAS**, v. 26, p. 69-80, 2018.
- STEBBING, A. R. D. Hormesis — The stimulation of growth by low levels of inhibitors. **Science of The Total Environment**, 22(3), 213–234. 1982. doi:10.1016/0048-9697(82)90066-3
- TATAGIBA, V. J; LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L; COSTA, H; VENTURA, J. A. CONTROLE QUÍMICO DO OÍDIO DO MAMOEIRO. **Fitopatologia Brasileira**: Brasília. vol.27 no.2 2002. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582002000200017>
- TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E. Efeitos de fungicidas no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotecnologia** 29(1):52-59. 2005
- TAVARES, S. C. C. de H. Epidemiologia e manejo integrado de *Botryodiplodia theobromae* - situação atual no Brasil e no mundo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, p. 46-52. 2002.
- WANG, Y.; DUAN, Y.B.; ZHOU, M-G. Molecular and biochemical characterization of boscalid resistance in laboratory mutants of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**. 64: 101-108. 2015.
- WARREN, S. THE HISTOPATHOLOGY OF RADIATION LESIONS. **Physiological Reviews**, 24(2), 225–238. 1945. doi:10.1152/physrev.1944.24.2.225.
- ZHANG, S.; PANACCIONE, S.G.; GALLEGLY, M.E. Metalaxyl stimulation of growth of isolates of *Phytophthora infestans*. **Mycologia**, ISSN: 1557-2536.v.89: 289-292. 1997.
- ZHOU, F.; LIANG, H.J.; DI, YL.; YOU, H.; ZHU, F.X. Stimulatory effects of sublethal doses of dimethachlon on *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, St. Paul.v.98. p.1364–1370. 2014.

Capítulo II

Efeito hormese e manejo da resistência a tiofanato-metílico em isolados de *Lasiodiplodia theobromae*

Submissão: Plant Pathology

Qualis CAPES (Ciências Agrárias I): A1

1 **Efeito hormese e manejo da resistência a tiofanato-metílico em isolados de**

2 *Lasiodiplodia theobromae*

3

4

5 E. L. Silva^a, C. D. Garzón^b and U. P. Lopes^{c*}

6

7 ^a*Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife 52171-*
8 *900, Brasil;* ^b*Oklahoma State University, Stilwater 74078, EUA;* ^c*Unidade Acadêmica de*
9 *Garanhuns, Universidade Federal Rural do Pernambuco, Garanhuns 55292-270, Brasil.*

10

11 *E-mail: ueder.lopes@ufrpe.br

12

13 **Resumo**

14

15 *Lasiodiplodia theobromae* é o agente causal de uma das principais doenças do mamoeiro
16 (*Carica papaya*) e isolados resistentes ao fungicida tiofanato-metílico têm sido encontrados
17 em áreas de cultivo no Nordeste brasileiro. Diante disso, este estudo teve como objetivos
18 avaliar a sensibilidade de isolados resistentes de *L. theobromae* e a eficácia de diferentes
19 fungicidas, e investigar os efeitos da hormese induzida por fungicida nas populações do
20 patógeno, visando buscar alternativas para o manejo desta importante doença. Foram
21 realizados ensaios *in vitro* e *in situ*, utilizando fungicidas registrados e não registrados para
22 a cultura. Fungicidas inibidores da desmetilação foram mais eficientes em controlar
23 isolados resistentes *in vitro*, sendo que imazalil, metconazol e tebuconazol foram eficientes
24 também no controle da podridão. Por outro lado, o fungicida tiabendazol, registrado para
25 controle da doença em pós-colheita, foi ineficiente em controlar podridão causada pelo
26 isolado resistente, além de aumentar sua agressividade. Foram observados estímulos
27 induzidos por tiofanato-metílico sobre o crescimento micelial e a agressividade do isolado
28 resistente. A ineficácia de controle observada neste estudo, aliada à ocorrência de estímulo
29 de crescimento e agressividade do patógeno na presença dos fungicidas, apontam a
30 necessidade de buscar estratégias para o manejo da doença em áreas com histórico de
31 resistência. O fungicida imazalil, registrado em pós-colheita do mamão, é uma boa opção
32 para o controle de isolados de *L. theobromae*. Metconazol e tebuconazol, embora não
33 registrados para a cultura, apresentam potencial para o manejo da doença em áreas com
34 histórico de resistência a tiofanato-metílico.

35

36 *Palavras-chave:* *Carica papaya*, Botryosphaeriaceae, fungicida, resistência

37

38 **Introdução**

39

40 A podridão peduncular, causada por espécies de Botryosphaeriaceae, é uma das
41 principais doenças do mamoeiro (*Carica papaya* L.). Dentre as espécies associadas a esta
42 doença, *Lasiodiplodia theobromae* tem sido comumente encontrada em áreas de cultivo no
43 Nordeste brasileiro (Netto et al. 2014). Este patógeno ataca plantas de mamoeiro ainda no
44 campo, onde é capaz de infectar os frutos e causar podridões em pós-colheita. Esta
45 característica, associada à capacidade de colonização sem desenvolvimento de sintomas
46 (Mohali et al, 2005), baixa especificidade, elevada agressividade e capacidade de
47 sobrevivência como saprófita, faz com que a doença seja de difícil manejo (Viana et al.
48 2007; Amorim et al., 2016; Lima et al., 2013).

49 As principais práticas de manejo da podridão peduncular envolvem cuidados no
50 campo e em pós-colheita, tais como aplicação de fungicidas, principalmente de forma
51 preventiva, e manuseio e armazenamento cuidadoso do fruto. Além disso, a remoção de
52 restos culturais, bem como de folhas senescentes ou que apresentem sintomas da doença,
53 também constitui uma medida de manejo da doença, embora menos usual (Rezende;
54 Martins, 2005).

55 No Brasil, somente os fungicidas flutriafol e tiabendazol são registrados para
56 manejo desta doença no mamão, sendo que flutriafol é aplicado no campo e tiabendazol é
57 utilizado em pós-colheita. Outros fungicidas sistêmicos, pertencentes aos grupos dos
58 benzimidazóis (tiofanato-metílico), triazóis (difenoconazol e imazalil) e estrobilurinas
59 (piraclostrobina), têm sido utilizados no manejo de outras doenças na cultura (AGROFIT,
60 2020). Assim, embora somente dois fungicidas sejam registrados para o manejo desta
61 doença, a população do patógeno é constantemente exposta a diferentes fungicidas, o que
62 pode levar ao surgimento de isolados resistentes.

63 Recentemente, foi relatada a resistência de isolados de *L. theobromae* ao fungicida
64 tiofanato-metílico em amostras provenientes de áreas de cultivo de mamão do estado do
65 Rio Grande do Norte, no Nordeste brasileiro (Cavalcante et al., 2014). Esta resistência foi
66 caracterizada e associada a uma alteração no gene da β -tubulina (códon *E198K*) (Chen et
67 al., 2019). O surgimento da resistência gera preocupação com relação ao manejo desta
68 doença em pós-colheita, uma vez que o tiabendazol, utilizado para seu controle, pertence
69 ao mesmo grupo químico do tiofanato-metílico, o que pode resultar na ineficácia de
70 controle em tratamentos em pós-colheita. Além disso, isolados resistentes podem ser
71 estimulados por um fungicida ao qual ele é resistente ou a outros fungicidas de diferentes
72 grupos químicos (Zhang et al, 2019).

73 Estudos prévios têm relatado a ocorrência de estímulo de crescimento e
74 agressividade em patógenos expostos a baixas doses de fungicidas, um fenômeno
75 conhecido como hormese (Cong et al., 2018; Di et al., 2015; Flores and Garzón, 2013).
76 Este fenômeno pode ocorrer tanto em isolados resistentes quanto sensíveis ao fungicida,
77 sendo mais comum em isolados resistentes (Silva et al., 2018). Embora tenha sido relatado
78 em diversas espécies de fungos fitopatogênicos, este efeito ainda é desconhecido em *L.*
79 *theobromae*. Por isso, a análise do potencial risco da exposição de isolados resistentes a
80 subdoses de tiofanato-metílico torna-se relevante, uma vez que este fungicida é utilizado no
81 manejo de outras doenças na cultura do mamoeiro. Além disso, é necessário avaliar outros
82 fungicidas para manejo da doença em áreas com relato de resistência.

83 Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho: i) Avaliar a sensibilidade de
84 isolados de *L. theobromae* a diferentes fungicidas *in vitro*; ii) Avaliar a eficácia de
85 fungicidas registrados para tratamento em pós-colheita de mamão no controle da podridão
86 causada por isolados resistentes e sensíveis; iii) Avaliar a eficácia de controle de fungicidas
87 utilizados para outras doenças do mamoeiro e de fungicidas não registrados para a cultura

88 sobre isolados resistentes a tiofanato-metílico (TM); iv) Analisar a ocorrência de hormese
89 induzida por TM *in vitro* em isolados de *L. theobromae*; v) Analisar o efeito de doses
90 subinibitórias de TM sobre a agressividade dos isolados *in situ*.

91

92 MATERIAL E MÉTODOS

93

94 Obtenção dos isolados

95

96 Foram utilizados seis isolados resistentes (R) e quatro sensíveis (S) de *L.*
97 *theobromae* da Coleção de Fungos Fitopatogênicos Prof.^a Maria Menezes (CMM) da
98 Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife, Pernambuco) (Tabela 1). Os isolados
99 foram previamente identificados por inferência filogenética e caracterizados com relação à
100 sensibilidade a tiofanato-metílico e à presença de mutação no gene β -tubulina (TUB2),
101 associada à resistência (Cavalcante et al., 2014; Chen et al., 2019).

102

103 Sensibilidade dos isolados a diferentes fungicidas *in vitro*

104

105 A sensibilidade dos isolados de *L. theobromae* foi analisada *in vitro*, utilizando 18
106 diferentes fungicidas, pertencentes a diferentes grupos químicos (Tabela 2). Sob condições
107 assépticas, os fungicidas foram adicionados ao meio de cultura batata dextrose ágar (BDA)
108 fundente (45 °C), visando obter as seguintes concentrações finais de ingrediente ativo (i.a.):
109 0,0; 0,01; 0,1; 1; 10; 100; e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Para os fungicidas do grupo QoI, foi adicionado
110 ácido salicil-hidroxiâmico (SHAM), a 77 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, visando suprimir a via oxidase
111 alternativa.

112 Discos de micélio (5 mm de diâmetro) obtidos a partir da margem de colônias de

113 dois dias de idade foram colocados no centro de placas de Petri contendo meio BDA com
114 os fungicidas. Como testemunhas foram utilizadas placas com meio BDA sem fungicida.
115 Os discos foram colocados invertidos, de forma que o micélio ficasse em contato com o
116 meio. Foram utilizadas três repetições, sendo cada uma composta por uma placa. As placas
117 foram mantidas em câmara de crescimento a 25 °C, no escuro, por 48h. Após esse período,
118 foi avaliado o crescimento da colônia, com o auxílio de um paquímetro digital, medindo-se
119 o diâmetro (mm) nos dois sentidos perpendiculares e obtendo-se a média. A porcentagem
120 de inibição (I) foi calculada em relação à testemunha utilizando a seguinte fórmula: $I = ((D_T -$
121 $D_F)/D_T) \times 100$, onde: D_T é o diâmetro da colônia em meio sem fungicida (testemunha), e
122 D_F é o diâmetro da colônia em meio com fungicida. A concentração efetiva capaz de inibir
123 50% do crescimento micelial (CE_{50}) foi estimada por regressão linear entre a porcentagem
124 de inibição *versus* \log^{-10} da concentração de i.a. para todos os fungicidas e suas
125 concentrações.

126

127 **Eficácia de controle de fungicidas registrados em pós-colheita de mamão sobre** 128 **podridões causadas por isolados de R e S**

129

130 Objetivando verificar a eficácia de fungicidas registrados para pós-colheita de
131 mamão no controle de podridões causadas por isolados R e S de *L. theobromae*, foi
132 realizado um experimento com os isolados CMM-2174 (R) e CMM-2302 (S), e os
133 fungicidas imazalil e tiabendazol. O delineamento foi o inteiramente casualizado (DIC),
134 com seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram em: T1- isolado R,
135 sem fungicida; T2- isolado S, sem fungicida; T3- isolado R + imazalil; T4- isolado R +
136 tiabendazol; T5- isolado S + imazalil; T6- isolado S + tiabendazol.

137 Frutos de mamão da variedade Formosa, no estágio 5 de maturação (75% - 100% da

138 superfície amarela), foram obtidos de áreas de cultivo sem histórico de aplicação de
139 fungicidas. Os frutos foram lavados em água corrente e submetidos a tratamento
140 hidrotérmico (48 °C por 10 min, e 8 °C por 10 min). Em seguida, os frutos foram
141 pulverizados com álcool 70% até o ponto de escoamento e colocados em câmara de fluxo
142 laminar até a secagem. Sob condições assépticas, as duas extremidades de cada fruto foram
143 cortadas e a porção central utilizada para obtenção de fragmentos (5 cm x 5 cm), os quais
144 foram pulverizados com os fungicidas imazalil (1000 µg.mL⁻¹) e tiabendazol (1940 µg.mL⁻¹)
145 até o ponto de escoamento, com auxílio de um borrifador manual.

146 Os fragmentos foram deixados secar por 10 min e, posteriormente, acondicionados
147 em potes de 6 x 8 cm (altura x diâmetro) com tampa. Um ferimento de 2 mm de
148 profundidade foi realizado na superfície do fruto, com o auxílio de uma agulha, onde foi
149 inoculado um disco de micélio de 5 × 2 mm (diâmetro x profundidade), obtido a partir da
150 margem de colônias de dois dias de idade. Fragmentos de frutos não tratados com os
151 fungicidas foram utilizados como testemunha e cada tratamento dispôs de uma testemunha
152 no mesmo fruto. Os potes contendo os fragmentos foram mantidos em ambiente asséptico,
153 a 25 °C e fotoperíodo de 12h.

154 As avaliações foram realizadas às 12, 24 e 36 horas após a inoculação (hai),
155 medindo-se o diâmetro da lesão em dois sentidos perpendiculares, com o auxílio de um
156 paquímetro digital e com os dados obtidos foi calculada a Área Abaixo da Curva de
157 Progresso do Diâmetro da Lesão (AACPD) (Shaner; Finney, 1977).

158

159 **Eficácia de fungicidas registrados para doenças foliares e fungicidas não registrados** 160 **para a cultura do mamão no controle de isolado resistente**

161

162 Para verificar o efeito da aplicação de fungicidas utilizados na cultura do mamoeiro

163 sobre o crescimento do isolado resistente de *L. theobromae* foram realizados dois
164 experimentos.

165 O primeiro consistiu na aplicação de doses comerciais de fungicidas registrados
166 para a cultura do mamoeiro no Brasil, porém, para doenças foliares. Foi realizado um
167 experimento seguindo o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com sete
168 tratamentos (T1- sem fungicida; T2- flutriafol 375 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; T3- difenoconazol 75 $\mu\text{g.mL}^{-1}$;
169 T4- piraclostrobina 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; T5- tiofanato-metílico 700 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; T6- tiabendazol 1940
170 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, T7-Imazalil 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e quatro repetições. O segundo experimento consistiu
171 na aplicação de fungicidas não registrados para a cultura do mamoeiro, determinada a
172 partir de testes previamente realizados na dose de 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O experimento foi
173 conduzido em DIC, com 13 tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram
174 em: T1- sem fungicida; T2- carbendazim; T3- tebuconazol; T4- metconazol; T5-
175 ciproconazol; T6- propiconazol; T7- boscalida; T8- fenpropimorfe; T9- trifloxistrobina;
176 T10- azoxistrobina; T11- crezoxim-metílico; T12- fluazinam; T13- iprodiona. Em ambos
177 os experimentos, cada unidade experimental foi composta por três fragmentos de frutos.

178 Os fragmentos de frutos foram preparados, tratados com os fungicidas e inoculados
179 com o isolado R (CMM-2174), conforme descrito no item anterior. A avaliação foi
180 realizada às 48 h ai, pela medida do diâmetro da lesão (DL) em duas direções
181 perpendiculares, com o auxílio de um paquímetro digital. Os dados de diâmetros da lesão
182 foram utilizados para calcular a porcentagem de controle em relação ao tratamento
183 testemunha (sem fungicida).

184

185 **Efeito de doses subinibitórias de tiofanato-metílico sobre o crescimento micelial de *L.***
186 *theobromae*

187

188 Em ensaios prévios de sensibilidade de *L. theobromae* a tiofanato-metílico (TM),
189 com doses variando de 0,01 a 5000 µg.mL⁻¹, foi verificado que doses próximas a 1 µg.mL⁻¹
190 estimulavam o crescimento de isolados anteriormente caracterizados como resistentes ao
191 fungicida. A fim de confirmar esse efeito, foi realizado um novo experimento, utilizando
192 quatro isolados resistentes (CMM-2174, CMM-2179, CMM-2180 e CMM-2182), e o
193 fungicida TM na dose de 1 µg.mL⁻¹. Em seguida, foi avaliado o crescimento dos isolados
194 CMM-2174 e CMM-2179 nas doses de 1,5; 1,4; 1,3; 1,2; 1,1; 1,0; 0,9; 0,8; 0,7; 0,6 e 0,5
195 µg.mL⁻¹ de TM.

196 Para realização destes ensaios, discos de micélio (5 mm de diâmetro), obtidos a
197 partir da margem de colônias previamente cultivados por 48 h, foram transferidos para
198 placas de Petri contendo meio BDA com as diferentes concentrações de TM. Como
199 testemunhas foram usadas placas com meio BDA sem fungicida. Os discos foram
200 colocados invertidos, de forma que o micélio ficasse em contato com o meio. Foram
201 utilizadas nove repetições (placas) para cada tratamento.

202 Após 48h de incubação a 25 °C no escuro, foram obtidas imagens digitais das
203 placas exibindo crescimento micelial, as quais foram processadas no programa QUANT
204 V.1.0.1 (Vale et al., 2001). Efeitos inibitórios ou estimulantes foram calculados utilizando
205 a fórmula I: $((D_T - D_F) / D_T) \times 100$, onde: D_T é o diâmetro da colônia em meio sem fungicida
206 (testemunha), e D_F é o diâmetro da colônia em meio com fungicida. Todos os experimentos
207 foram repetidos quatro vezes.

208

209 **Efeito de doses subinibitórias de TM sobre a agressividade de *L. theobromae* in situ**

210

211 Pecíolos de mamoeiro (90 cm) foram desinfestados com hipoclorito de sódio
212 (0,5%), lavados com água destilada e secos com papel toalha. Em seguida, cada pecíolo foi

213 dividido em fragmentos menores (10 cm), que foram cortados ao meio, e mantido em
214 câmara úmida. Discos de micélio obtidos das margens de colônias com dois dias de idade
215 (isolado CMM-2174) foram colocados sobre a extremidade superior do pecíolo. Duas
216 horas após, foi realizada a pulverização com solução de TM ($0,8 \mu\text{g.mL}^{-1}$) até o ponto de
217 escorrimento. Pecíolos inoculados que não receberam aplicação do fungicida foram
218 utilizados como testemunha. As avaliações foram realizadas às 24, 48 e 72 ha.i, pela
219 medida do comprimento da lesão, com o auxílio de um paquímetro digital.

220

221 **Análise dos dados**

222

223 Os dados obtidos (diâmetro médio da colônia, área de lesão e AACPDL) foram
224 submetidos ao teste Tukey a 5% de significância, utilizando o software Sisvar (Ferreira,
225 2011). Todos os gráficos foram elaborados no software SigmaPlot 11.0 (Scientific
226 Graphing software 2008).

227

228 **RESULTADOS**

229

230 **Sensibilidade dos isolados de *L. theobromae* a diferentes fungicidas *in vitro***

231

232 De modo geral, os isolados R (resistentes a tiofanato-metílico) apresentaram
233 resistência aos fungicidas dos grupos MBC e QoI (exceto piraclostrobina), e foram
234 sensíveis aos demais fungicidas. Por outro lado, os isolados S (sensíveis a TM) foram
235 sensíveis a todos os fungicidas avaliados, exceto para os fungicidas do grupo QoI
236 azoxistrobina, cresoxim-metílico e trifloxistrobina (Tabela 3).

237 Para os isolados R, os valores de CE_{50} para tiofanato-metílico e carbendazim foram

238 superiores a $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, enquanto que para tiabendazol os valores variaram de 6,7 a 26,5
239 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Já os isolados S apresentaram elevado grau de sensibilidade aos fungicidas
240 tiofanato-metílico, carbendazim e tiabendazol, com baixos valores de CE_{50} , variando de
241 $<0,01$ a $1,6 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Embora os valores de CE_{50} dos isolados R crescidos em meio com
242 tiabendazol tenham sido menores quando comparados aos outros fungicidas do grupo
243 MBC, estes foram superiores ao apresentado pelos isolados S.

244 Tanto os isolados R quanto S apresentaram alta sensibilidade aos fungicidas DMIs,
245 com valores máximos de CE_{50} de 3,4 e $20,8 \mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Dentre os
246 fungicidas, os que apresentaram melhor eficácia foram o difenoconazol (EC_{50} médio de
247 $0,08$ e $0,9 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para isolados R e S, respectivamente) e propiconazol (EC_{50} médio de
248 $0,14$ e $0,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para isolados R e S, respectivamente), seguidos por tebuconazol (EC_{50}
249 médio de $0,24$ e $0,38 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para isolados R e S, respectivamente). Da mesma forma,
250 ambos os isolados R e S apresentaram alta sensibilidade (baixos valores de CE_{50}) aos
251 fungicidas fenpropimorfe ($<0,01$ a $1,9 \mu\text{g.mL}^{-1}$), boscalida ($<0,01$ a $0,88 \mu\text{g.mL}^{-1}$),
252 fluazinam ($<0,06 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e iprodiona (de $0,1$ a $3,8 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

253 No caso dos fungicidas do grupo QoI, azoxistrobina, crezoxim-metílico e
254 trifloxistrobina, os valores de CE_{50} foram superiores a $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para todos os isolados
255 R e S, exceto o CMM-2206 (S), que apresentou valores de CE_{50} de $62,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $0,02$
256 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para azoxistrobina e trifloxistrobina, respectivamente. O fungicida piraclostrobin,
257 embora pertença ao grupo QoI, apresentou baixos valores de CE_{50} , quando comparado às
258 demais estrobilurinas, variando de $3,8$ a $14,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e de $0,5$ a $11,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$, para
259 isolados R e S, respectivamente.

260

261 **Eficácia de fungicidas registrados para tratamento em pós-colheita de mamão no**
262 **controle de podridão causada por isolados de *L. theobromae* R e S**

263

264 Em frutos inoculados com o isolado R (CMM-2174), somente o fungicida imazalil
265 foi capaz de controlar a doença. Em frutos tratados com tiabendazol, o diâmetro da lesão
266 (DL) foi de 6, 12 e 15 mm, enquanto em frutos não tratados esse valor foi de 6, 10 e 14
267 mm, às 12, 24 e 36 hai, respectivamente (Figura 1A).

268 Para o isolado sensível (CMM-2302), ambos os fungicidas imazalil e tiabendazol
269 foram eficientes, controlando totalmente a doença. Em frutos não tratados, o diâmetro da
270 lesão alcançou 4, 11 e 18 mm às 12, 24 e 36 hai (Figura 1B).

271

272 **Eficácia de fungicidas registrados para doenças foliares e fungicidas não registrados**
273 **para a cultura do mamão no controle de isolado resistente**

274

275 A análise da eficácia de controle da podridão causada por isolado resistente de *L.*
276 *theobromae* (CMM-2174), usando fungicidas registrados para controle de doenças foliares
277 do mamoeiro (Experimento I), mostrou que imazalil foi o mais eficaz, controlando 100%
278 da doença (Tabela 4). Os fungicidas flutriafol, difenoconazol e piraclostrobina levaram a
279 uma redução de 51, 14 e 26% do diâmetro da lesão, respectivamente em relação ao
280 controle livre de fungicida. Por outro lado, os fungicidas tiofanato-metílico e tiabendazol
281 não foram capazes de controlar a doença e, no caso do tiabendazol, as lesões foram 35%
282 maiores do que o tratamento sem fungicida.

283 No experimento II, foi observado um controle de 100% da doença nos frutos
284 tratados com os fungicidas metconazol e tebuconazol. Outro fungicida do grupo DMI,
285 propiconazol, também apresentou boa eficácia de controle, com uma redução de 66% no

286 diâmetro da lesão. Os fungicidas fluazinam, fenpropimorfe e boscalida reduziram a doença
287 em 27, 25 e 17%, respectivamente, enquanto carbendazim, ciproconazol e azoxistrobina
288 não foram eficientes em controlar a doença. Por outro lado, frutos tratados com cresoxim-
289 metílico, trifloxistrobina e iprodiona apresentaram aumento do diâmetro das lesões em 20,
290 13 e 10%, respectivamente.

291

292 **Hormese induzida por tiofanato-metílico em isolados R**

293

294 Todos os isolados avaliados apresentaram estímulo de crescimento quando
295 cultivados em meio BDA contendo $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de tiofanato-metílico (Figura 2). Os isolados
296 CMM-2174 e CMM-2179 apresentaram valores médios de estímulo de 8 e 4%,
297 respectivamente. Embora estímulos de até 48% tenham sido observados para o isolado
298 CMM-2180, este também apresentou valores de inibição de 4 e 14%, reduzindo seu
299 estímulo médio para 8%. Para o isolado CMM-2182, foram verificados baixos valores de
300 estímulos (16 e 6%) e elevados valores de inibição (21 e 23%), com uma inibição média de
301 6%.

302 A avaliação do crescimento micelial dos isolados resistentes CMM-2174 e CMM-
303 2179, quando expostos a baixas doses de TM, mostrou que houve estímulo do crescimento
304 nas doses variando entre 0,7 e 0,9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e entre 0,8 e 1,1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente.
305 Para ambos os isolados, o maior estímulo foi observado na dose de 0,8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$,
306 alcançando o máximo de 20% (Figura 3). Embora os resultados relacionados à hormese
307 sejam variáveis, quando analisados em conjunto, verifica-se que há uma tendência de
308 estímulo de crescimento em doses próximas a $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ($\text{Log } 10= 0$), para ambos os
309 isolados (Figura 4).

310

311 **Efeito de subdoses de tiofanato-metílico sobre a agressividade de *L. theobromae***

312

313 Pecíolos de mamoeiro inoculados com o isolado CMM-2174 e pulverizados com
314 subdoses de TM apresentaram maior quantidade de doença quando comparados a pecíolos
315 não pulverizados, com incremento de até 24% no comprimento da lesão, reduzindo para
316 7% de estímulo às 72 h (Figura 5). Às 48 horas após a inoculação, o comprimento da lesão
317 foi de 31 mm em pecíolos tratados, e de 25 mm em não tratados, enquanto às 72 h, o
318 comprimento foi de 64 mm e 60 mm, em pecíolos tratados e não tratados, respectivamente.

319 Pelo cálculo da AACPCL, foi possível confirmar que o tratamento com TM
320 proporcionou aumento do comprimento da lesão em pecíolos infectados pelo isolado
321 resistente, sendo 2.076 em pecíolos tratados e 1.831 em pecíolos não tratados ($P < 0,05$).

322

323 **DISCUSSÃO**

324

325 Foi verificada uma resistência cruzada dos isolados aos fungicidas tiofanato-
326 metílico e carbendazim, com valores de CE_{50} superiores a $1.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ nos testes *in vitro*,
327 e ineficiência de controle da doença em frutos. Estes fungicidas pertencem ao mesmo
328 grupo químico (MBC) (FRAC 2020) e o fenômeno de resistência cruzada a MBCs tem
329 sido relatado em outros patógenos (Cunha; Rizzo, 2003). No entanto, para tiabendazol, que
330 também pertence ao grupo MBC, foram verificados valores de CE_{50} bastante inferiores,
331 indicando uma possível eficiência deste fungicida no controle de isolados resistentes.
332 Porém, como observado nos ensaios em frutos, tiabendazol não foi capaz de controlar a
333 podridão causada pelo isolado resistente, embora tenha controlado a doença causada pelo
334 isolado sensível. Diferenças de sensibilidade entre isolados a tiofanato-metílico e
335 tiabendazol têm sido relatadas em espécies de Botryosphaeriaceae (Santos et al. 2019),

336 *Botrytis cinerea* (La Mondia; Douglas, 1997) e *Colletotrichum musae* (Amaral, 2019).

337 Os fungicidas inibidores da demetilação (DMIs) e os fungicidas boscalida,
338 fenpropimorfe, fluazinam e iprodiona tiveram uma boa eficácia de controle *in vitro*, tanto
339 para os isolados resistentes quanto os sensíveis, demonstrando o potencial de uso para
340 manejo da resistência. Entretanto, foi observada muita variação entre os resultados *in vitro*
341 e *in situ*. De modo geral, os fungicidas imazalil, tebuconazol e metconazol foram os mais
342 efetivos em controlar a doença causada pelo isolado resistente. Vale ressaltar que estes
343 fungicidas pertencem ao grupo dos DMIs e apresentam uma alta mobilidade nas plantas, o
344 que pode afetar a eficiência no controle da doença (Metcalf et al., 2019). Isso pode
345 explicar a alta eficiência deste grupo em relação a outros fungicidas com menor
346 mobilidade, como boscalida, fenpropimorfe, fluazinam e iprodiona, que também foram
347 eficientes *in vitro*, mas não apresentaram boa eficácia no controle da doença em frutos.

348 Com relação aos fungicidas do grupo QoI (estrobilurinas), foi verificada a
349 ineficácia de controle do crescimento de isolados R e S *in vitro* e da podridão causada pelo
350 isolado R *in situ*. Nos ensaios *in vivo*, a maioria dos isolados apresentaram valores de CE₅₀
351 superiores a 100 µg.mL⁻¹ para trifloxistrobina, azoxistrobina e cresoxim-metílico, enquanto
352 esses valores foram muito menores para piraclostrobina. Diferenças na sensibilidade de
353 patógenos às diferentes estrobilurinas têm sido relatadas, sendo piraclostrobina apontada
354 como a mais eficiente (Maurer et al., 2017). Alguns destes isolados foram previamente
355 estudados e, embora tenha sido observada uma sensibilidade alterada à azoxistrobina, não
356 foi encontrado mecanismo associado a essa alteração (Chen et al., 2019). Em frutos, todas
357 as estrobilurinas foram ineficientes em controlar a doença, sendo que cresoxim-metílico e
358 trifloxistrobina estimularam o desenvolvimento do patógeno, cujas lesões foram maiores
359 do que a testemunha. Portanto, além da sensibilidade diferencial de isolados de *L.*
360 *theobromae* a diferentes estrobilurinas, os resultados indicam a ocorrência de estímulo na

361 agressividade causada pela exposição do fungo aos fungicidas crezoxim-metílico e
362 trifloxistrobina.

363 Além disso, isolados de *L. theobromae* previamente caracterizados como resistentes
364 ao tiofanato-metílico apresentaram estímulos *in vitro* e *in situ* quando expostos a baixas
365 doses deste fungicida. Da mesma forma, foi observado estímulo na agressividade de
366 isolados resistentes em frutos tratados com tiabendazol. Convém salientar que, embora os
367 dados tenham sido variáveis, a tendência de estímulo foi observada, e que estas variações
368 no estímulo são bastante comuns quando se estuda o fenômeno de hormese (Garzón et al,
369 2011). O estímulo causado pelos fungicidas MBCs em isolados resistentes é bastante
370 relevante, pois sua aplicação em áreas com relatos de resistência, ou em pós-colheita em
371 frutos provenientes dessas áreas, pode estar agravando o problema da podridão causada por
372 *L. theobromae*. Cabe salientar que, neste estudo, isolados resistentes foram estimulados por
373 subdoses de tiofanato-metílico e doses comerciais de outros fungicidas.

374 Portanto, baseado nos resultados obtidos neste estudo, o uso de tiofanato-metílico
375 em campo e de tiabendazol em pós-colheita deve ser evitado em áreas de cultivo de
376 mamoeiro com histórico de resistência a tiofanato-metílico, como no estado do Rio Grande
377 do Norte. Como alternativa, pode ser utilizado o tratamento de frutos com imazalil, que se
378 mostrou eficiente no controle da doença. Embora não seja registrado para *L. theobromae*,
379 este fungicida é registrado para tratamento em pós-colheita de mamão. Além disso, outra
380 possibilidade é o registro dos fungicidas metconazol e tebuconazol para controle da
381 podridão peduncular, uma vez que se mostraram bastante efetivos.

382

383 **CONCLUSÕES**

384

385 A ineficácia de controle observada neste estudo, aliada à ocorrência de estímulo de

386 crescimento e agressividade do patógeno na presença dos fungicidas tiofanato-metílico,
387 tiabendazol, crezoxim-metílico, iprodiona e trifloxistrobina, apontam para a necessidade de
388 buscar estratégias para o manejo da doença em áreas com histórico de resistência. O
389 fungicida imazalil, registrado para o tratamento em pós-colheita do mamão, é uma boa
390 opção para o controle de isolados de *L. theobromae*. Além disso, os fungicidas metconazol
391 e tebuconazol, embora não sejam registrados para a cultura, apresentam potencial para o
392 manejo da doença em áreas com histórico de resistência a tiofanato-metílico.

393

394 **AGRADECIMENTOS**

395

396 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico (CNPq) pela bolsa de
397 estudos.

398

399 **REFERÊNCIAS**

400

401 AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Consulta de Praga. URL:
402 http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. [09 de fevereiro de
403 2020].

404 Cavalcante, RD, Lima, WG, Martins, RB, Tovar-Pedraza MJ, Michereff, SJ, Camara,
405 MPS 2014. Thiophanate-methyl sensitivity and fitness in *Lasiodiplodia theobromae*
406 populations from papaya in Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 140:251–259.

407 Chen, F, Tsuji, SS, Li, Y, Hu, M, Bandeira, MA, Câmara, MPS, Schnabel, G 2019.
408 Reduced sensitivity of azoxystrobin and thiophanate methyl resistance in *Lasiodiplodia*
409 *theobromae* from papaya. *Pesticide Biochemistry and*
410 *Physiology*. doi:10.1016/j.pestbp.08.008.

411 Cong, M, He, S, Ma, H, LI, G, Zhu, F 2018. Hormetic effects of carbendazim on the
412 virulence of *Botrytis cinerea*. Huazhong Agricultural University: China. Plant Disease.
413 Doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1602-RE>.

414 Cunha, MG, Rizzo, DM 2003. Development of fungicide cross resistance in
415 *Helminthosporium solani* populations from California. Plant Disease. 87:798–803.

416 Di, YL, Zhou, ZQ, LU, X-M, Zhu, F-X 2015. Pathogenicity stimulation of *Sclerotinia*
417 *sclerotiorum* by subtoxic doses of carbendazim. Plant Disease. 99:1342-1346.

418 Ferreira, DF 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e
419 Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042.

420 Flores, FJ, Garzon, CD 2013. Detection and assessment of chemical hormesis on the
421 radial growth *in vitro* of oomycetes and fungal plant pathogens. Dose Response.
422 11:361-373.

423 FRAC – Fungicide Resistance Action Committee. How does fungicide resistance
424 evolve? URL: <https://www.frac.info/fungicide-resistance-management/background>. [09
425 de fevereiro de 2020].

426 Garzon, CD, Molineros, JE, Yanez, JM, Flores, FJ, DEL MAR JIMÉNEZ-GASCO, M,
427 Moorman, GW 2011. Sublethal Doses of Mefenoxam Enhance Pythium Damping-off
428 of Geranium. Plant Disease. 95(10): 1233–1238..

429 LaMondia, JA, Douglas, SM 1997. Sensitivity of *Botrytis cinerea* from Connecticut
430 greenhouses to benzimidazole and dicarboximide fungicides. Plant disease 81(7): 729-
431 732.

432 Maurer, K. Cowles, RS, LaMondia, JA 2017 Sensitivity of *Calonectria*
433 *pseudonaviculata*, the Pathogen of Boxwood Blight, to Strobilurin and Demethylation
434 Inhibitor Fungicides in Connecticut. Journal of Environmental Horticulture.35: 138-
435 145

436 Metcalfe, RJ, Shaw, MW, Russell, PE 2019. The effect of dose and mobility on the
437 strength of selection for DMI fungicide resistance in inoculated field experiments. *Plant*
438 *Pathology* 49:546-557.

439 Netto, MSB, Assunção, IP, Lima, GSA, Marques, MW, Lima, WG, Monteiro, JHA,
440 Queiroz Balbino, V, Michereff, SJ, Phillips, AJL, Câmara, MPS 2014. Species of
441 *Lasiodiplodia* associated with papaya stem-end rot in Brazil. *Fungal Diversity*, 67(1):
442 127–141.

443 Santos, KM, Tsuji, SS, Câmara, MPS, Michereff, SJ, Lopes, UP 2019. Sensitivity to
444 methyl benzimidazole carbamate fungicides of Botryosphaeriaceae species from mango
445 orchards in the Northeast of Brazil. *European Journal of Plant Pathology*. 153: 209-222.

446 Silva, EL, Freitas-Lopes, RL, Lopes, UP 2018. Hormese induzida por fungicidas em
447 fungos e oomicetos fitopatogênicos: status atual e perspectivas de pesquisas. *Revisão*
448 *anual de patologia de plantas*. 26: 69-80.

449 Shaner, G, Finney, RE 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of
450 slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology* 70:1183-1186.

451 VALE, F.X.R. et al. 2001. *Quantificação de doenças - Quant: versão 1.0.1*. Viçosa:
452 UFV. Software

453 Viana, FMP, Cardoso, JE, Souza, RNM, Holanda, VO 2007. Controle da Podridão-da-
454 Haste-do-Mamoeiro no Estado do Ceará. EMBRAPA. Boletim técnico. 1679-6535.

455 Zhang, R, Zhang, Y, Xu, Q, Li, J, Zhu, F 2019. Hormetic Effects of Mixtures of
456 Dimethachlone and Prochloraz on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*. 103:546-
457 554.

458

459

460

461

462 **Lista de tabelas**

463

464 **Tabela 1.** Isolados de *Lasiodiplodia theobromae* provenientes de mamão usados neste
465 estudo

| Classe | Mutação no gene TUB2 | Código do isolado* |
|----------------|----------------------|--|
| Resistente (R) | Presença | CMM-2167; CMM-2174; CMM-2179; CMM-2180; CMM-2182; CMM-2345 |
| Sensível (S) | Ausência | CMM-2206; CMM-2267; CMM-2302; CMM-2326 |

466 *Código do isolado na Coleção de Fungos Fitopatogênicos Prof. Maria Menezes (CMM) da Universidade
467 Federal Rural de Pernambuco (Recife, Pernambuco).

468

469

470 **Tabela 2.** Produtos comerciais e concentrações dos diferentes ingredientes ativos utilizados

471 para avaliar a sensibilidade *in vitro* de isolados de *Lasiodiplodia theobromae*

| Produto comercial | Grupo químico* | Ingrediente ativo (i.a.) | Concentração de i.a. (%) |
|-------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Cercobim 700 | MBC (Benzimidazóis) | Tiofanato-metílico | 70 |
| Derosal 500 SC | | Carbendazim | 50 |
| Tecto SC | | Tiabendazol | 48,5 |
| Alto 100 | DMI | Ciproconazol | 10 |
| Caramba 90 | | metconazol | 9 |
| Impact 125 SC | | Flutriafol | 12,5 |
| Score | | Difenoconazol | 25 |
| Folicur PM | | Tebuconazol | 20 |
| Magnate 500 EC | | Imazalil | 50 |
| Nortox | | Propiconazol | 25 |
| Corbel | Morfolina | Fenpropimorfe | 75,8 |
| Cantus | SDHI | Boscalida | 50 |
| Frownicide 500 SC | Dinitro-anilina | Fluazinam | 50 |
| Rovral | Dicarboxamida | Iprodiona | 50 |
| Priori | QoI (estrobilurinas) | Azoxistrobina | 25 |
| Score SC | | Cresoxim-metílico | 50 |
| Flint 500 WG | | Trifloxistrobina | 50 |
| Comet | | Piraclostrobina | 25 |

472 *MBC - Metil Benzimidazol Carbamato; DMI - Inibidor da Desmetilação; SDHI - Inibidor da Succinato
473 Desidrogenase; QoI - Inibidor da Quinona Oxidase.

474 **Tabela 3.** Valores da concentração efetiva de diferentes fungicidas ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) capaz de inibir 50% do crescimento micelial (CE_{50}) de isolados
 475 de *L. theobromae* R e S ao fungicida tiofanato-metílico

| Isolados* | Fungicidas** | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|--------------|-------|------|------|-------|------|-------|------|-----|------|-------|-------|-------|------|------|------|------|------|
| | TM | Car | Tia | Cip | Met | Flut | Dif | Teb | Ima | Prop | Fen | Bosc | Flua | Ipro | Azo | CM | Trif | Pir |
| CMM-2174 (R) | >1000 | >1000 | 6,7 | 0,7 | <0,01 | 1,2 | 0,01 | 0,3 | 1,1 | 0,2 | <0,01 | <0,01 | <0,01 | 0,1 | >100 | >100 | >100 | 3,8 |
| CMM-2182 (R) | >1000 | >1000 | 26,5 | 2,0 | 0,03 | 0,4 | 0,06 | 0,19 | 0,7 | 0,04 | <0,01 | 0,9 | <0,01 | 2,5 | >100 | >100 | >100 | 14,2 |
| CMM-2180 (R) | >1000 | >1000 | 20,5 | 2,4 | 0,3 | 2,1 | 0,2 | 0,4 | 0,9 | 0,3 | 0,02 | 0,6 | <0,01 | 2,7 | >100 | >100 | >100 | 5,7 |
| CMM-2345 (R) | >1000 | >1000 | 23,0 | 3,4 | 0,05 | 0,9 | 0,08 | 0,3 | 2 | 0,07 | 0,09 | 0,2 | <0,01 | 2,0 | >100 | >100 | >100 | 10,2 |
| CMM-2167 (R) | >1000 | >1000 | 14,8 | 1,3 | 0,07 | 1,3 | 0,04 | 0,01 | 0,2 | 0,05 | <0,01 | 0,7 | <0,01 | 0,4 | >100 | >100 | >100 | 9,1 |
| CMM-2206 (S) | 0,7 | <0,01 | 0,1 | 1,5 | 0,01 | 0,5 | <0,01 | 0,05 | 0,3 | 0,02 | <0,01 | 0,9 | <0,01 | 0,4 | 62,2 | >100 | 0,02 | 0,5 |
| CMM-2302 (S) | 0,2 | 0,2 | 1,3 | 3,1 | 0,09 | 1,8 | 0,05 | 0,3 | 1,4 | 0,03 | 0,05 | 0,7 | <0,01 | 2,2 | >100 | >100 | >100 | 8,1 |
| CMM-2267 (S) | 0,8 | 0,4 | 1,6 | 19,2 | 1,69 | 1,5 | 1,2 | 0,6 | 1,6 | 0,9 | 1,9 | 0,6 | 0,06 | 3,8 | >100 | >100 | >100 | 4,6 |
| CMM-2326 (S) | 0,35 | 0,25 | 1,6 | 20,8 | 0,6 | 9,8 | 1,5 | 0,6 | 1,3 | 0,75 | 0,3 | 0,74 | <0,01 | 0,3 | >100 | >100 | >100 | 11,2 |

476 *Código do isolado na Coleção de Fungos Fitopatogênicos Prof. Maria Menezes (CMM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife, Pernambuco). R: resistente;
 477 S: sensível a tiofanato-metílico. ** TM: Tiofanato-metílico; Car: Carbendazim; Tia: Tiabendazol; Cip: Ciproconazol; Met: metconazol; Flut: Flutriafol; Dif: Difenconazol;
 478 Teb: Tebuconazol; Ima: Imazalil; Prop: Propiconazol; Fen: Fenpropimorfe; Bosc: Boscalida; Flua: Fluazinam; Ipro: Iprodiona; Azo: Azoxistrobina; CM: Crezoxim-metílico;
 479 Trif: Trifloxistrobina; Pir: Piraclostrobina. Os valores representam a média de três repetições.

480 **Tabela 4.** Eficácia de controle (%) em frutos de mamão pulverizados com doses
 481 comerciais de fungicidas registrados para doenças foliares (Experimento I) e com
 482 fungicidas não registrados para a cultura (Experimento II), após inoculação com isolado
 483 resistente de *L. theobromae* (CMM-2174)

| | Fungicida | Dose | Eficácia de controle (%) |
|-----------------------|--------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Experimento I | Flutriafol | 375 µg.mL ⁻¹ | 51 c* |
| | Difenoconazol | 75 µg.mL ⁻¹ | 14 bc |
| | Piraclostrobina | 100 µg.mL ⁻¹ | 26 bc |
| | Tiofanato-metílico | 700 µg.mL ⁻¹ | 4 ab |
| | Tiabendazol | 1940 µg.mL ⁻¹ | -35,6 a |
| | Imazalil | 1000 µg.mL ⁻¹ | 100 d |
| | Sem fungicida | - | - |
| Experimento II | Carbendazim | | 5 abcd |
| | Ciproconazol | | 9 bcd |
| | Metconazol | | 100 f |
| | Tebuconazol | | 100 f |
| | Propiconazol | | 66 e |
| | Fenpropimorfe | 100 µg.mL ⁻¹ | 25 cd |
| | Boscalida | | 17 cd |
| | Fluazinam | | 27 d |
| | Iprodiona | | -10 ab |
| | Azoxistrobina | | 0 abc |
| | Crezoxim-metílico | | -20 a |
| | Trifloxistrobina | | -13 ab |
| | Sem fungicida | - | - |

484 *Médias seguidas da mesma letra na coluna, para cada experimento, não diferem estatisticamente entre si
 485 Valores correspondem à média de três repetições. Inibição negativa corresponde a estímulo no crescimento.
 486

487

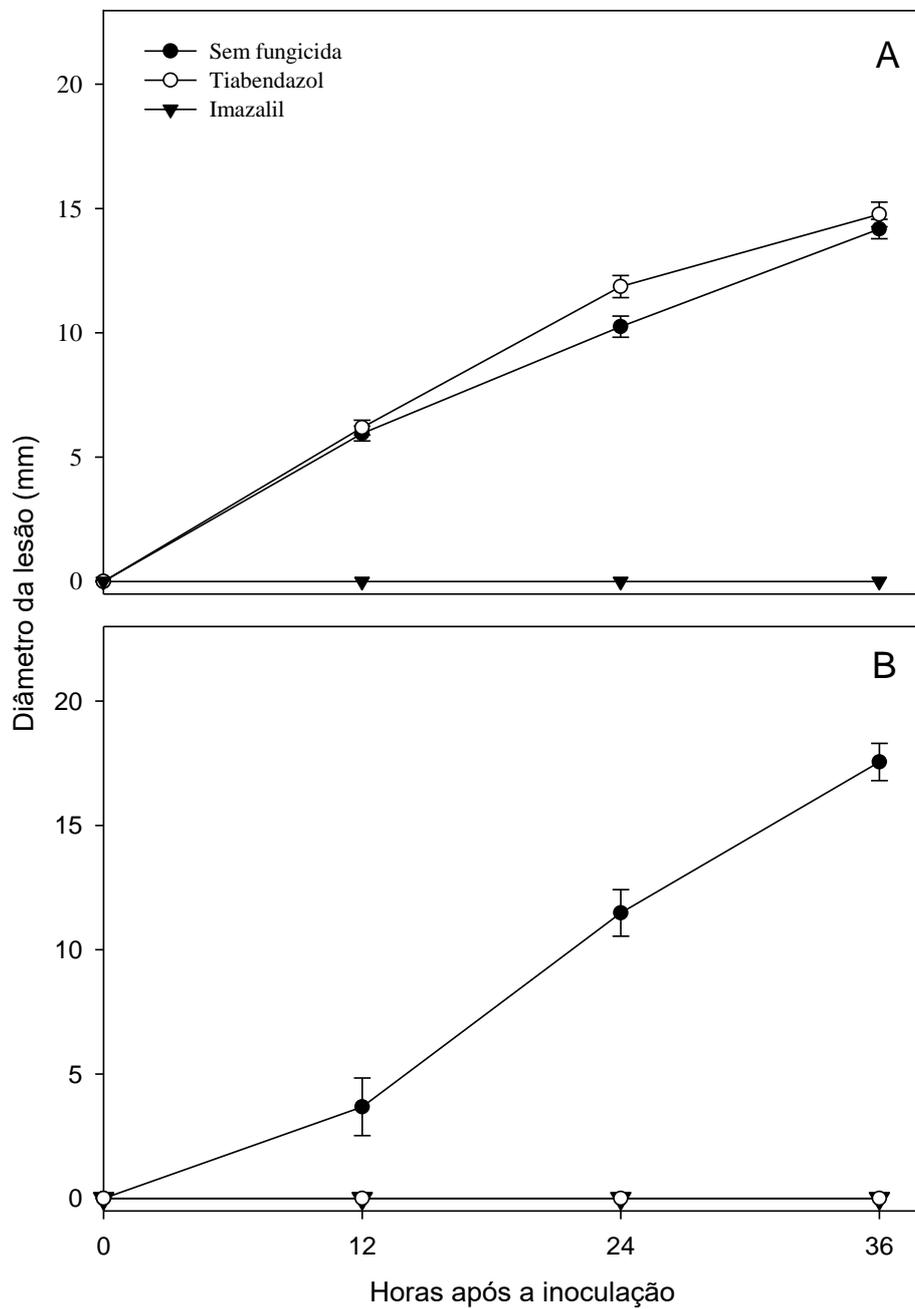
488

489

490

491

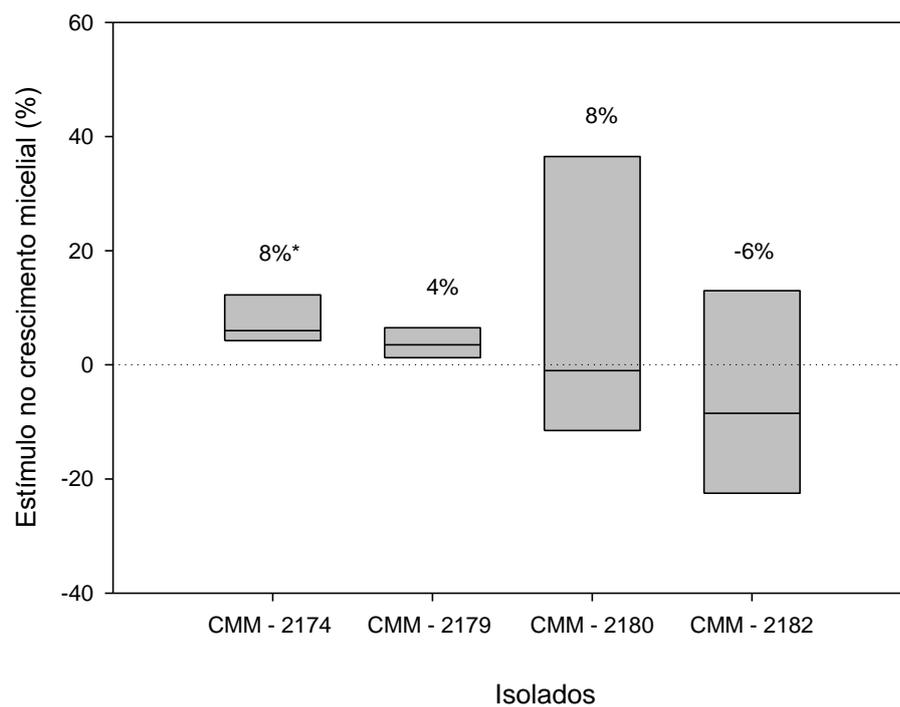
492



495

496 **Figura 1.** Diâmetro da lesão causada por isolados de *Lasiodiplodia theobromae* resistente (CMM-2174) (A) e
497 sensível (CMM-2302) (B) em frutos de mamão pulverizados com doses comerciais de tiabendazol e imazalil.

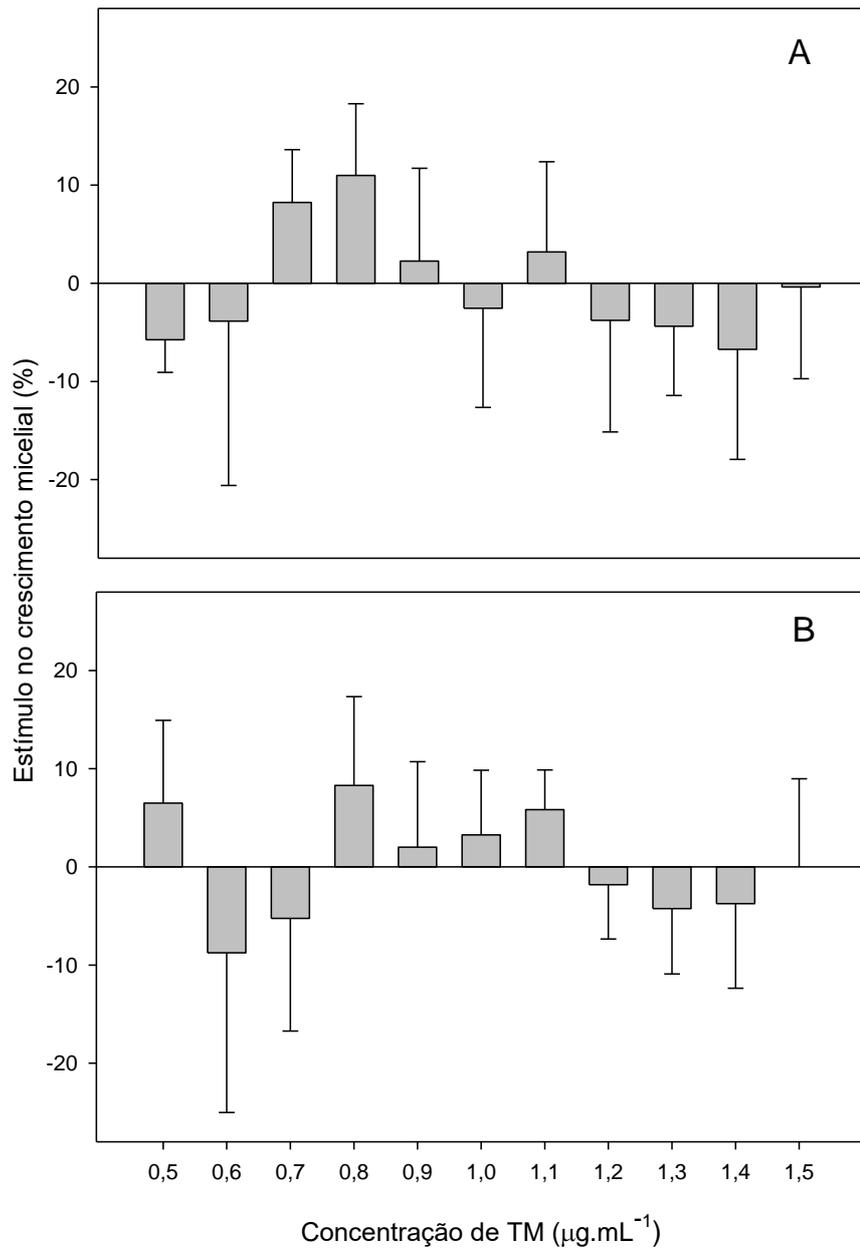
498 Cada ponto representa a média de três repetições. Barras representam o erro padrão.



499

500 **Figura 2.** Estímulo do crescimento micelial (%) de quatro isolados de *Lasiodiplodia theobromae* resistentes a
 501 tiofanato-metílico, quando expostos ao fungicida na dose de 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. * Os valores acima das barras
 502 (estímulo ou inibição) correspondem à média obtida de 36 repetições (placas).

503



504

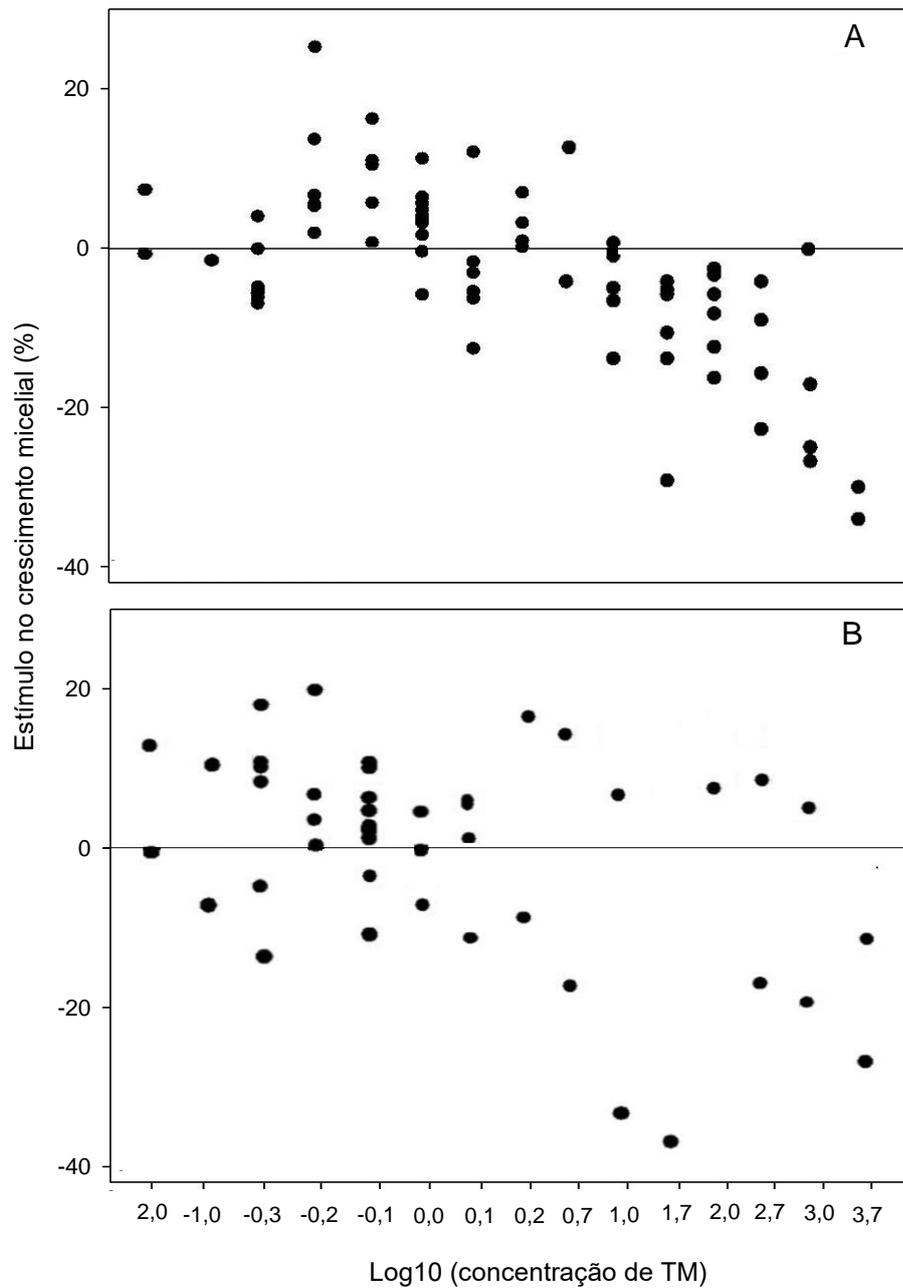
505 **Figura 3.** Estímulo no crescimento micelial (%) de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* resistentes ao

506 tiofanato-metílico, quando expostos a baixas doses (0,5 a 1,5 µg.mL⁻¹) do fungicida. **A:** isolado CMM-2174;

507 **B:** isolado CMM-2179. Valores (colunas) representam a média de quatro repetições. Barras representam o

508 erro padrão.

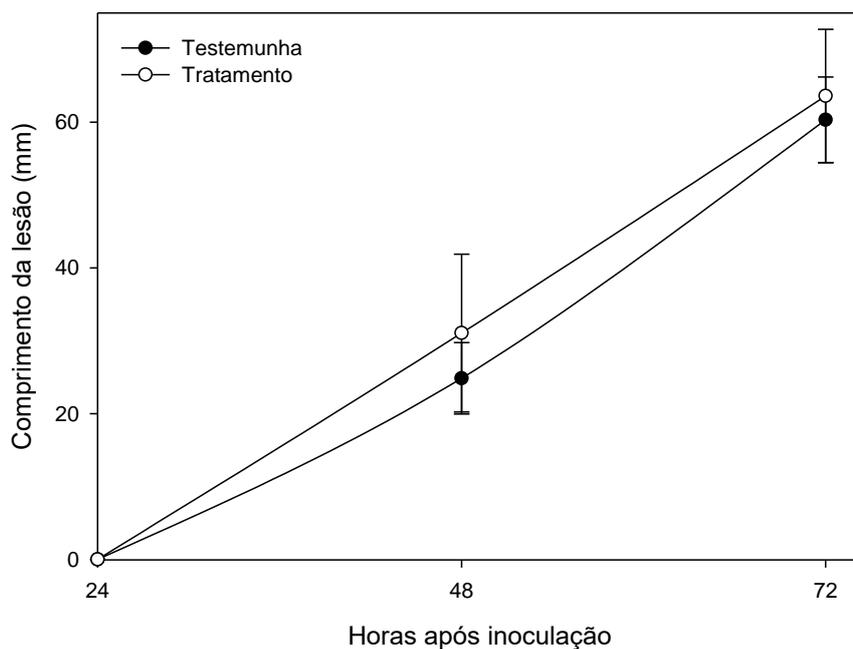
509



510

511 **Figura 4.** Dados compilados do crescimento micelial de isolados resistentes de *Lasiodiplodia theobromae*
 512 CMM-2174 (A) e CMM-2179 (B) cultivados em meio BDA suplementado com diferentes doses de tiofanato-
 513 metílico. Os valores de Log10 correspondem, da esquerda para a direita, aos valores de concentração de TM
 514 ($\mu\text{g.mL}^{-1}$): 0,01; 0,1; 0,5; 0,7; 0,8; 1; 1,2; 1,5; 5; 10; 50; 100; 500; 1000; 5000. Os valores correspondem à
 515 média de nove repetições.

516



517

518 **Figura 5.** Comprimento da lesão em pecíolos de mamoeiro pulverizados com $0,8 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de tiofanato-
 519 metílico às 24h após inoculação com o isolado de *L. theobromae* CMM-2174 (tratamento). Pecíolos não
 520 pulverizados foram utilizados como testemunha. Os valores correspondem à média obtida de 10 pecíolos, a
 521 partir de quatro experimentos independentes.

522

523