

CÍCERO NICOLINI

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Alternaria brassicicola*
(Schwn.) Wilt. DE CULTIVOS CONVENCIONAIS E
ORGÂNICOS DE BRÁSSICAS A FUNGICIDAS**

**RECIFE -PE
MARÇO – 2008**

CÍCERO NICOLINI

SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Alternaria brassicicola*

(Schwn.) Wilt. DE CULTIVOS CONVENCIONAIS E

ORGÂNICOS DE BRÁSSICAS A FUNGICIDAS

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.

**RECIFE - PE
MARÇO – 2008**

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Alternaria brassicicola*
(Schwn.) Wilt. DE CULTIVOS CONVENCIONAIS E
ORGÂNICOS DE BRÁSSICAS A FUNGICIDAS**

CÍCERO NICOLINI

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Prof. Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho (UFRPE) – Orientador

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE) – Co-orientador

Dr. Nelson Dias Suassuna (Embrapa Algodão) – Co-orientador

**RECIFE – PE
MARÇO – 2008**

**SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Alternaria brassicicola*
(Schwn.) Wilt. DE CULTIVOS CONVENCIONAIS E
ORGÂNICOS DE BRÁSSICAS A FUNGICIDAS**

CÍCERO NICOLINI

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 03/03/2008

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho (UFRPE)

EXAMINADORES:

**RECIFE – PE
MARÇO – 2008**

A Deus.

AGRADEÇO

A minha família, meus pais Tarcísio (in memorian) e Maria e minha irmã Cecília.

DEDICO

Aos meus amigos e todos aqueles que me apoiaram para mais essa conquista.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a tudo e a todos!

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	vi
SUMÁRIO	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
CAPÍTULO I – Introdução Geral	10
Referências Bibliográficas	25
CAPÍTULO II – Sensibilidade de isolados de <i>Alternaria brassicicola</i> (Schwn.) Wilt de cultivos convencionais e orgânicos de brássicas a fungicidas.....	31
Resumo	32
Introdução	33
Material e Métodos	35
Resultados	37
Discussão	39
Agradecimentos	42
Literatura Citada	42
CONCLUSÕES GERAIS	50

RESUMO

A alternariose é uma das doenças foliares mais comuns e destrutivas das brássicas, podendo ser causada por várias espécies de *Alternaria*, embora *A. brassicicola* seja a espécie predominante em plantios convencionais e orgânicos no Brasil. Como inexistem cultivares comerciais de brássicas com níveis aceitáveis de resistência à doença, no sistema de produção convencional o controle da doença se baseia na aplicação de fungicidas, enquanto no sistema orgânico em métodos culturais. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade de 112 isolados de *A. brassicicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos de brássicas a fungicidas dos grupos dicarboximidas (iprodione), triazóis (tebuconazole) e estrobilurinas (azoxystrobin). Os isolados foram avaliados *in vitro* visando obter a concentração capaz de inibir 50% do crescimento micelial (CL₅₀) e separados em quatro classes dependendo da sua sensibilidade aos fungicidas testados. Todos os isolados de *A. brassicicola* foram sensíveis a iprodione, com valores de CL₅₀ inferiores a 0,1 mg i.a./L. A maioria dos isolados oriundos de cultivos convencionais (92,9%) e orgânicos (96,4%) se comportou como medianamente resistente a azoxystrobin, enquanto um isolado (CFM-576) foi altamente resistente. Em relação a tebuconazole, foram constatados somente isolados sensíveis (42,9%) e ligeiramente resistentes (57,1%). Não foi encontrada diferença significativa quanto à sensibilidade aos fungicidas testados entre os isolados de *A. brassicicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos, bem como, coletados de diferentes tipos de brássicas.

Palavras-chave: alternariose, Brassicae, resistência a fungicidas, azoxistrobina, iprodiona, tebuconazol.

ABSTRACT

The *Alternaria* black spot is one of the most common and destructive diseases of brassica species. This disease can be caused by several species of *Alternaria*, although *A. brassicicola* is predominant species in both conventional and organic crops in Brazil. Since commercial cultivars of brassica with acceptable levels of disease resistance are not available, the disease control in conventional production system is based on the fungicide applications, while in the organic production system the disease control on relays on cultural methods. The objective of this study is to assess the sensitivity of 112 isolates of *A. brassicicola* to fungicide groups: benzimidazoles (carbendazim), dicarboximides (iprodione), triazoles (tebuconazole) and strobilurines (azoxystrobin). The isolates were evaluated *in vitro* to obtain the concentration capable of inhibiting 50% of the mycelial growth (CL₅₀) and separated in four classes depending on the sensibility to the tested fungicides. All the isolated of *A. brassicicola* were sensitive the iprodione, with CL₅₀ values below to 0.1 mg i.a./L. Most of the isolates originating from conventional (92.9%) and organic (96.4%) were middling resistant the azoxystrobin, while an isolated (CFM-576) was highly resistant. In relation to tebuconazole, only isolated sensitive (42.9%) and lightly resistant (57.1%) were observed. There was no significant difference between the isolates of *A. brassicicola* originated either from conventional or organic systems and brassica types regarding the levels of sensitivity to the fungicides.

Key words: Alternariose Black spot, Brassicae, fungicide resistance, iprodione, azoxystrobin, tebuconazole.

Capítulo I

Introdução Geral

INTRODUÇÃO GERAL

Características gerais da família Brassicaceae

A família Brassicaceae é composta por várias culturas sendo as de maior importância olerícola a *Brassica oleracea* var. *capitata* L. (repolho), *Brassica oleracea* var. *botrytis* L. (couve-flor), *Brassica oleracea* var. *italica* L. (brócolis), (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C. (couve-manteiga) e *Brassica pekinensis* L. (couve-chinesa) (MAROTO-BORREGO, 1995; FILGUEIRA, 2000).

O repolho é uma hortaliça anual, considerada a mais importante da família Brassicaceae pela sua ampla distribuição, facilidade de produção e aceitação dos consumidores. Possui taxa de crescimento alta e elevados teores de nutrientes de valor alimentar (SILVA JÚNIOR, 1989). Tem origem na costa oriental do Mediterrâneo e Ásia Menor, acredita-se que foi introduzida na Europa pelos celtas por volta do século IX e na América por volta do século XV através dos conquistadores. É uma planta herbácea, possuindo folhas arredondadas e cerosas, ocorrendo superposição de folhas centrais formando uma cabeça, parte comestível (FILGUEIRA, 2000). Taxonomicamente existem dois tipos de repolho, o liso (*B. oleracea* var. *capitata*), de maior expressão comercial no Brasil, e o repolho crespo (*B. oleracea* var. *sabauba* Martens). Os repolhos são classificados de acordo com forma, que pode ser achatada, redonda, pontuda, oval e elíptica e a coloração da cabeça, pode ser verde ou roxa. Algumas cultivares produzidas são: Astrus, Fuyutoyo, Chato de Brunswick, Coração de Boi e Rubi Perfection. A área mundial de repolho colhida em 2006 foi de 3.133.923 ha, com produção total de 68.895.061 t com produtividade média de 23,5 t/ha (FAO, 2008). No Brasil, em 1996 a produção foi de 501.110 t. A região Nordeste produziu 45.764 t, sendo o Estado de Pernambuco responsável por 27% da produção, ficando na terceira colocação, tendo a Bahia e o Ceará como primeiro e segundo maiores produtores, com 38,9% e 28,3% respectivamente. Em Pernambuco os principais municípios produtores são Bezerros (2.520 t) e Camocim de São Félix (1.618 t) (IBGE, 1996).

A couve-flor é uma planta que possui folhas alongadas de limbo elíptico, sendo a parte comestível uma inflorescência imatura, formando uma cabeça de coloração branca ou creme, que se desenvolve sobre um caule curto. As cultivares mais produzidas são: Piracicaba Precoce e Verona (FILGUEIRA, 2000). A produção mundial de couve-flor e brócolis em 2006 foi de 18.074.842 t em uma área de 954.139 ha com produtividade média de 17 t/ha (FAO 2008). A

produção brasileira em 1996 foi de 95.866 t, o estado de Pernambuco produziu 976 t (IBGE, 1996).

A couve-manteiga é composta por um caule vertical, que sempre emite novas folhas em seu ápice, bem como numerosos brotos laterais, que se originam nas axilas das folhas. As folhas constituem a parte comestível, com limbo muito desenvolvido e arredondado, com pecíolo longo e nervuras bem destacadas (FILGUEIRA, 2000). Na maioria das áreas de produção, a couve-manteiga é obtida de propagação vegetativa de clones tradicionais, não havendo aceitação pelos olericultores de cultivares, propagadas por sementes. Apesar da couve-manteiga obter menores valores de mercado que outras brássicas, tem expressão econômica pelo volume de produção e seu cultivo normalmente ocorrer juntamente com outras brássicas. A produção brasileira atingiu 96.915 t em 1996, sendo 2.630 t produzidas em Pernambuco, onde se destacaram os municípios de Bom Jardim e Pombos (IBGE, 1996).

O brócoli é uma variedade botânica da mesma espécie e morfológicamente semelhante à couve-flor. Durante a fase vegetativa produz uma inflorescência de coloração verde, compacta, formando uma cabeça (tipo cabeça) ou então inflorescências laterais (tipo ramoso) que são formados por botões florais ainda fechados e pedúnculos tenros formando a parte comestível. O brócoli não tem a expressão econômica da couve-flor, sendo esta mais rica nutricionalmente e mais saborosa (FILGUEIRA, 2000). A produção brasileira em 1996 foi de 21.725 t, enquanto a de Pernambuco foi de 179 t (IBGE, 1996).

A couve-chinesa é uma planta anual com folhas de coloração branca, espessas, com nervura central destacada, que se fecham formando uma cabeça de formato globular-alongada. É uma planta oriunda do extremo oriente, atualmente cultivada em todos os continentes. É sensível ao frio, e fotoperíodo longo e temperaturas abaixo de 12°C induzem a floração precoce. (MAROTO-BORREGO, 1995). A maioria das cultivares produz melhor em condições de temperaturas amenas com exceção de alguns híbridos como Komachi que são mais adaptados ao calor (FILGUEIRA, 2000). Em 1996 o Brasil produziu 265.000 t, Pernambuco produziu 8.807 t sendo os principais municípios produtores Camocim de São Félix e Chã Gande (IBGE, 1996).

Características gerais das Alternarioses das brássicas

Mundialmente, a alternariose é uma das doenças mais comuns e destrutivas das brássicas, podendo afetar as plantas em todos os estádios de desenvolvimento. As reduções no rendimento são resultantes, principalmente, da diminuição do potencial fotossintético e da aceleração da

senescência. Essa doença pode ser causada por várias espécies de *Alternaria*, mas *A. brassicicola* (Schwn.) Wilt. e *A. brassicae* (Berk.) Sacc. são as mais freqüentes em diversos países (VERMA; SAHARAN, 1994; SAHARAN; MEHTA; SANGWAN, 2005; KOIKE; GLADDERS; PAULUS, 2006). No Brasil, *A. brassicicola* tem sido a espécie predominante em plantios convencionais e orgânicos de brássicas (REIFSCHNEIDER; SIQUEIRA; CORDEIRO, 1983; AZEVEDO et al., 2000; MICHEREFF et al., 2003; RODRIGUES et al., 2004a; RODRIGUES et al., 2004b; PERUCH; MICHEREFF; ARAÚJO, 2006; PERUCH; MICHEREFF, 2007), afetando não somente a produtividade como também a qualidade dos produtos (RODRIGUES et al., 2004a; MARINGONI, 2005). Em levantamentos realizados no Estado de Pernambuco, a prevalência da alternariose foi de 95% em plantios convencionais de repolho nas safras 1997 e 1998 (AZEVEDO et al., 2000) e de 100% em cultivos orgânicos de brócolis e couve-flor na safra 2001 (PERUCH; MICHEREFF; ARAÚJO, 2006).

Características morfológicas, epidemiológicas e controle de *A. brassicae* e *A. brassicicola*

A. brassicae forma colônias profusas, cor pálida-olivácea, aveludada, sendo os conídios individuais facilmente visíveis sob 20 vezes de aumento ao microscópio. O micélio é do tipo imerso, as hifas são septadas, ramificadas, hialinas, lisas e com largura de 4 a 8 μ . Os conidióforos crescem agrupados em grupos de 2 a 10 ou mais a partir da hifa, porém são usualmente isolados, emergindo a partir dos estômatos. Ainda sobre os conidióforos, estes podem ser: eretos ou ascendentes, retos ou flexuosos, freqüentemente geniculados, mais ou menos cilíndricos e freqüentemente arredondados na base, são septados, lisos, de cor cinza pálido, com comprimento de até 170 μ , 6 a 11 μ de espessura e uma ou várias cicatrizes. Os conídios são solitários ou ocasionalmente em cadeias de quatro, crescendo a partir de pequenos poros na parede do conidióforo. São retos ou levemente curvados, obclavados, rostrados, com septos transversos (usualmente 11 a 15) e septos longitudinais (usualmente 0 a 3) ou oblíquos. A sua cor é pálida ou olivácea pálida ou ainda cinza-olivácea. As paredes são lisas ou levemente rugosas. O seu comprimento varia de 75 a 350 μ , sendo sua espessura na parte de maior diâmetro entre 20 a 30 μ (algumas vezes até 40 μ), pedicelo com $\frac{1}{3}$ a $\frac{1}{2}$ comprimento do conídio e 5 a 9 μ de espessura (ELLIS, 1971; HOLLIDAY, 1980).

A. brassicicola se caracteriza por apresentar colônias profusas, marrom-oliváceas a marrom-escuras e aveludadas. O micélio é imerso, possui hifa ramificada, septada, hialinas, inter

e intracelular, lisa e com 1,5 a 7,5 μ de largura. Os conidióforos são solitários ou em grupos de 2 a 12 ou mais, porém, usualmente são isolados. São eretos ou ascendentes, ocasionalmente geniculados, mais ou menos cilíndricos, porém freqüentemente arredondados na base. Os conidióforos são septados, cor pálida a marrom olivácea, liso com tamanho de até 70 μ de comprimento e 5 a 8 μ de espessura. Os conídios apresentam-se comumente em cadeias de 20 ou mais e algumas vezes ramificados. Estes são acropleurógenos, crescendo a partir de pequenos poros na parede do conidióforo, retos, quase cilíndricos, usualmente afinando suavemente até a ponta ou obclavado. A sua célula basal é arredondada, bico quase não existente, célula apical sendo mais ou menos retangular ou parecendo um cone truncado, ocasionalmente melhor desenvolvido, mas sempre pequena e fina. O conídio apresenta de 1 a 11 septos, usualmente menos de seis, posicionados transversalmente, freqüentemente constrictos, e de cor pálida ou marrom olivácea. A sua parede é lisa, tornando-se enrugada com a idade, tamanho de 18 a 130 μ de comprimento, 8 a 30 μ de espessura na parte mais larga, pedicelo com $\frac{1}{6}$ do comprimento do conídio e 6 a 8 μ de espessura (ELLIS, 1971; HOLLIDAY, 1980).

As alternarioses podem ocorrer tanto no estágio de plântula quanto em plantas adultas. Em plântulas geralmente ocorre necrose nos cotilédones e hipocótilo, levando ao tombamento e morte, principalmente quando a infecção for sistêmica via sementes (ZAMBOLIM et al., 2000). Em plantas adultas os sintomas são manchas foliares, geralmente iniciando nas folhas mais externas, posteriormente avançando para todas as folhas. As lesões causadas por *A. brassicae* possuem coloração marrom-olivácea, pequenas, arredondadas e aumentam de diâmetro ficando em média com 2 cm e formando anéis concêntricos com halo clorótico. Em casos mais severos estas lesões podem coalescer causando a seca das folhas. As lesões de *A. brassicicola* são menores e mais escuras e sobre as lesões pode ser observada uma massa escura pulverulenta formada por conídios e conidióforos do fungo.

As fontes de inóculo das alternarioses são sementes infectadas, hospedeiros secundários e resíduos de culturas (MARINGONI, 2005). A disseminação ocorre pelas sementes e pelo vento (TOKESHI; SALGADO, 1980; MARINGONI, 2005). Os conídios germinam na presença de água e a penetração ocorre diretamente através da cutícula intacta embora *A. brassicae* também penetre pelos estômatos (VERMA; SAHARAN, 1994).

As condições epidemiológicas de ocorrência das alternarioses são: umidade relativa superior a 87% e temperatura variando de 15 a 30°C (HUMPHERSON-JONES; PHELPS, 1989). A infecção é iniciada se o período de molhamento foliar for de 5 a 8 horas, sendo necessárias 16 horas para o início da infecção e 48 a 72 horas para um ótimo estabelecimento da

doença (HUMPHERSON-JONES; HOCART, 1983). Para *A. brassicicola* a liberação dos esporos ocorre quando a umidade relativa do ar diminui, é inibida quando esta torna-se elevada. Dessa forma se tem um ciclo diário de concentração de esporos mínimo no início da manhã e máximo no final da tarde (HUMPHERSON-JONES; MAUDE, 1982). A faixa de temperatura para infecção de *A. brassicicola* é de 25°C e para produção de esporos de 20 a 30°C. Para *A. brassicae* a temperatura para ocorrência de infecção é de 15°C e requer temperaturas entre 18 a 24°C para esporulação (HUMPHERSON-JONES; HOCART, 1983; HUMPHERSON-JONES; PHELPS, 1989). Em temperaturas ótimas as duas espécies podem esporular dentro de 12 a 14 horas (HUMPHERSON-JONES; PHELPS, 1989).

Em brássicas, o sistema de produção convencional é o mais utilizado, principalmente pela praticidade do uso de fertilizantes inorgânicos e de produtos químicos para o controle de doenças e pragas. Os sistemas orgânicos de produção adotam como princípios básicos o manejo dos recursos naturais, do solo, nutrição vegetal e da proteção de plantas (PENTEADO, 2000). No entanto, existe pouco conhecimento sobre esses sistemas no que diz respeito a doenças de plantas (VAN BRUGGEN, 2001). O controle de alternariose no sistema de produção orgânico baseia-se na rotação de culturas, irrigação por gotejamento, plantio menos adensado e eliminação dos restos culturais (RODRIGUES et al., 2004a).

Ainda sobre o controle da alternariose, a adoção conjunta de diferentes práticas é fundamental, estabelecendo dessa forma um programa de manejo integrado que inclui plantio de sementes saudáveis, plantio de cultivares híbridos tolerantes, rotação de culturas, redução do estresse das plantas pela correta adubação e irrigação, bem como a aplicação de fungicidas (TÖFOLI; DOMINGUES, 2004).

De maneira geral, os principais métodos de controle praticados pelos produtores para controle da alternariose são: a utilização de sementes de alta qualidade, tratamento de sementes com fungicidas como thiram, pentacloronitrobenzeno ou iprodione. Para aplicação em parte aérea são usados chlorothalonil, iprodione e mancozeb (AZEVEDO; MICHEREFF; MARIANO, 2000). O tratamento térmico de sementes à 50°C por 30 minutos, a eliminação dos restos culturais e a rotação de culturas são também medidas eficientes (SILVA JÚNIOR, 1989; VERMA; SAHARAM, 1994; IPA/CEAGEPE/EMATER-PE, 1997; MARINGONI, 2005).

A resistência é considerada a melhor alternativa de controle de doenças de plantas pela sua facilidade de emprego, economicidade e menor impacto ambiental (PARLEVLIET, 1979; CHAKRABORTY et al., 1990; HABTU; ZADOKS, 1995). No caso de brássicas apenas populações de couve-chinesa têm demonstrado resistência a *A. brassicae* e *A. brassicicola*

(TÖFOLI; DOMINGUES, 2004), embora não existem cultivares comerciais de brássicas com níveis aceitáveis de resistência à alternariose (TEWARI; MITHEN, 1999; RODRIGUES et al., 2004a; SAHARAN; MEHTA; SANGWAN, 2005),

O controle cultural deve-se basear em práticas que proporcionem o escape da cultura ao ataque do patógeno, evitando as condições favoráveis ao desenvolvimento da doença (PALTI, 1981; RUSH; HARVESON; PICCINNI, 1997). Práticas que contribuem para a redução da umidade, período de molhamento foliar e maior circulação de ar entre as plantas como: evitar plantio em áreas úmidas e maior espaçamento são estratégias importantes no controle da alternariose. Evitar irrigações em períodos críticos também auxilia no controle, pois o tempo de molhamento influencia na severidade da doença. A densidade de inóculo pode ser reduzida pela incorporação dos resíduos, eliminação de plantas invasoras e não realização de plantios novos próximo a plantios em final de ciclo. Em caso de rotações, devido ao prolongado período de sobrevivência das alternarias em restos culturais recomenda-se que esta seja feita por um período de 2 a 3 anos com gramíneas, leguminosas. Em cultivos protegidos é importante utilizar plástico que absorva radiação ultravioleta pois na ausência desses a esporulação é reduzida (TÖFOLI; DOMINGUES, 2004).

Embora o manejo cultural possa minimizar o desenvolvimento da alternariose, o uso de fungicidas para proteção dessas culturas é importante. Para alternariose em hortaliças é recomendada uma série de fungicidas à base de cobre como: mancozeb, methiram, chlorothalonil, propineb, estanhados (batata, aliáceas e cenoura) e fluazinam (batata e tomate). Porém, poucos são registrados para o cultivo de brássicas (azoxistrobina, oxicloreto de cobre, mancozebe, manebe, captana, difenoconazol). Os produtos de contato apresentam largo espectro de ação, baixa fungitoxidade e conferem bom controle em níveis de pressão de doença baixo. São produtos de custo relativamente baixo e podem ser usados preventivamente durante todo o ciclo da cultura. Um aspecto importante é que atuam em vários sítios do metabolismo do fungo sendo de baixo risco de surgimento de isolados resistentes. Com a evolução dos fungicidas de ação sistêmica o controle da alternariose obteve um avanço considerável. Estes produtos atuam em sítios específicos do metabolismo, têm elevada fungitoxidade promovendo controle em condições extremas de doença. Os fungicidas sistêmicos possuem alta capacidade de penetração e circulação na planta, dessa forma estando menos sujeitos a ação de intempéries, sendo muito úteis na ação curativa e período de controle (TÖFOLI; DOMINGUES, 2004).

Utilização de fungicidas no controle de alternarioses em brássicas

Os produtos mais utilizados para controle de alternarioses em geral são iprodione e procymidone, pertencente ao grupo das dicarboximidas. Embora sejam produtos sistêmicos, também agem por contato, possuem boa profundidade de ação e ação curativa no início da infecção.

As dicarboximidas atuam interferindo na rotas de transdução do sinal osmótico, constituído pela cascata entre a histidina kinase e MAP kinase (YAMAGUCHI; FUJIMURA 2005). Alguns fungicidas desse grupo são iprodione, procimidone e vinclozoline. Atuam inibindo a germinação de esporos, promovendo a ramificação e intumescimento e lise de hifas (ZAMBOLIM; VENÂNCIO; OLIVEIRA, 2007).

As estrobilurinas possuem boa ação antiesporulante para fungos do gênero *Alternaria*, baseiam-se na inibição da respiração mitocondrial impedindo a transferência de elétrons entre o citocromo b e citocromo c, alguns exemplos são: azoxystrobin, kresoxim methyl, pyraclostrobin e trifloxistrobin. Esses produtos também atuam aumentando a atividade da nitrato-redutase, níveis de clorofila e reduzindo a produção de etileno, contribuindo para que as plantas sofram menos estresse no campo. O primeiro caso de resistência a estrobilurinas foi reportado em oídio do trigo (*Blumeria graminis* (D.C.) Speer f. sp. *tritici*) em populações localizadas ao norte da Alemanha em 1998.

Os triazóis são inibidores da síntese de ergosterol, possuem excelente ação preventiva e curativa e são eficientes em doses baixas, alguns que possuem registro para hortícolas são: tebuconazole, difenoconazole, tetraconazole, bromuconazole e metconazole. Além desse efeito são também inibidores da demetilação, que é um processo que leva à síntese de ergosterol, um dos principais componentes da parede celular de fungos pertencentes ao grupo dos ascomicetos, basidiomicetos e fungos mitospóricos. Esses fungos sintetizam o ergosterol. Os fungicidas triazóis inibem a biossíntese de ergosterol e em consequência inibem a formação da parede celular, matando os fungos. Os oomicetos retiram o ergosterol do meio, geralmente da planta hospedeira e não sintetizam o ergosterol. Por essa razão os fungicidas triazóis não afetam esses microorganismos nem controlam as doenças por eles causados. Assim, os fungicidas triazóis não são recomendados para controle de míldios, requeima (*Phytophthora*), tombamento de plantas (causado por *Pythium* spp.), míldio da videira e míldio da soja.

Outros grupos importantes no controle de alternarioses são as oxazolidinedionas se destacando o famoxadone por ter mínimo potencial de translocação. No grupo das anilinoimidinas, fungicidas como pyrimethanil e cyprodinil atuam inibindo a síntese de

proteínas ligadas à patogênese e síntese de aminoácidos essenciais do fungo. No grupo das anelidas o fungicida boscalid atua inibindo a esporulação e crescimento micelial, classificado como inibidor da respiração da célula fúngica (TÖFOLI; DOMINGUES, 2004).

Os benzimidazóis afetam especificamente a divisão celular, pois apresentam atividade seletiva para a tubulina de fungos, e se ligam a essa proteína, impedindo que ocorra a polimerização dos microtúbulos formadores do fuso mitótico. Alguns produtos desse grupo são carbendazim, tiabendazol e tiofanato-metílico.

A história do uso de fungicidas em larga escala para o controle de doenças em plantas teve seu início com a descoberta da calda bordalesa por Millardet em 1882, em Bordeaux na França, cuja mistura composta de sulfato de cobre e cal consistiu no principal fungicida utilizado por mais de 50 anos (DEKKER; GEORGOPOULOS, 1982). Os autores descrevem que poucos problemas relacionados com resistência a este fungicida tem sido relatados e o mesmo ocorre com os compostos organo-mercuriais, introduzidos por volta de 1914, os ditiocarbamatos introduzidos na década de 1930 e outros orgânicos desenvolvidos mais tarde que possuem a característica de fornecer proteção à planta, ficando apenas na sua superfície.

Por volta dos anos 50 iniciou-se a pesquisa por produtos que penetrassem na planta e erradicassem patógenos após sua infecção ou protegessem partes da planta que não entraram em contato direto com o fungicida (DEKKER; GEORGOPOULOS, 1982). Kimati (1996) cita que, na década de 1960, os primeiros fungicidas sistêmicos lançados no mercado foram os benzimidazóis e carboxamidas. Expõe também que as vantagens dos sistêmicos em relação aos não sistêmicos são tão grandes que em 1980 já eram contabilizados mais de 40 princípios ativos. Entre as vantagens cita: a especificidade de ação, maior fungitoxicidade inerente, maior efeito protetor, curativo e erradicante, menor fitotoxicidade, menor dosagem e menor contaminação ambiental, porém como desvantagem, a possibilidade do aparecimento de populações de patógenos resistentes.

A resistência de fungos a fungicidas pode ser definida como uma adaptação estável e hereditária do microorganismo ao composto químico, a qual resulta em redução da sensibilidade ao produto (DELP; DEKKER, 1985).

O conhecimento dos grupos de fungicidas é muito importante para os estudos de risco de resistência e para o estabelecimento de uma estratégia anti-resistência, pelo fato de que cada grupo é caracterizado por um desenvolvimento de resistência típico (GHINI; KIMATI, 2000). Atualmente os fungicidas podem ser agrupados de acordo com seu modo de ação e pelo mecanismo de ação, referindo-se aos processos bioquímicos do alvo biológico que sofrem

interferência pela ação do fungicida aplicado sobre a planta (ZAMBOLIM; VENÂNCIO; OLIVEIRA, 2007).

Staub e Sozzi (1984) descrevem que os fatores de risco para o desenvolvimento de resistência dependem da biologia do fungo e da química do fungicida. São úteis para avaliar o risco de resistência, variáveis como: a adaptação do isolado resistente, a taxa de reprodução do fungo alvo, a disseminação dos esporos e a duração da pressão de seleção em virtude de condições climáticas. O manejo dos fungicidas pode aumentar o tempo de exposição das gerações a um mesmo modo de ação. Assim como o tamanho da população do fungo, o escape de linhagens mais resistentes e a extensão da área aplicada com um mesmo produto podem aumentar o risco de surgimento de resistência. Segundo os autores, os fatores de risco relacionados ao manejo dos fungicidas podem ser minimizados pelo uso de cultivares resistentes ou práticas culturais que reduzam a pressão de seleção da doença quando os fatores inerentes estão presentes, já que estes estão além do nosso controle.

O advento dos fungicidas sistêmicos agregou inúmeras vantagens ao controle de doenças de plantas, contudo, por sua especificidade, esses compostos são mais propensos ao desenvolvimento de resistência nos fungos alvos (EDGINGTON et al., 1980).

Conforme Ghini e Kimati (2000), diferenças estruturais que ocorrem dentro de uma classe química podem influenciar o risco de resistência mesmo existindo uma estreita ligação entre a resistência e o grupo químico de fungicidas. Os autores citam como exemplo o grupo dos fungicidas triazóis que diferem consideravelmente quanto à ocorrência de resistência para um determinado patógeno e que os diferentes fungicidas inibidores da demetilação (DMIs) apresentam diferenças no espectro de atividade.

Os fungicidas pertencentes a um mesmo grupo químico podem apresentar resistência cruzada, significando que um isolado resistente a um fungicida também pode ser resistente a outros fungicidas com mesmo modo de ação. Os estudos de resistência cruzada são importantes por fornecer suporte às estratégias anti-resistência (GHINI; KIMATI, 2000).

Outro tipo de resistência é a chamada resistência múltipla, onde a resistência é conferida por mais de um fator de ordem genética, conferindo resistência a mais de um grupo químico (ZAMBOLIM; VENÂNCIO; OLIVEIRA, 2007).

A resistência também pode ser considerada uma característica qualitativa ou quantitativa, dependendo da quantidade de genes que regula essa característica. A resistência qualitativa ou oligogênica é controlada por poucos genes dominantes e pode ser suplantada quando fungicidas

de modo de ação específicos são introduzidos no campo (GHINI; KIMATI 2000, ZAMBOLIM; VENÂNCIO; OLIVEIRA, 2007)

A resistência quantitativa ou multigênica é controlada por um conjunto de genes, onde cada um é responsável por um pequeno efeito, sendo necessárias mutações em muitos genes e com efeito aditivo para que se desenvolva resistência. Como muitos genes estão envolvidos, afirma-se que são necessárias muitas aplicações para que ocorra mutação em algum desses genes. Isso ocorre mais lentamente, na prática o cruzamento entre linhagens mais resistentes e linhagens mais sensíveis pode levar a uma progênie com distribuição contínua, ou seja, com diversos graus de resistência. As combinações desses genes resultam em populações compostas por sub-populações com pequenas variações de sensibilidade (GHINI; KIMATI, 2000).

O processo de seleção de populações resistentes pode ser definido por dois termos: seleção disruptiva e seleção direcional. A seleção disruptiva é definida como a perda repentina da eficácia do produto, enquanto a seleção direcional é caracterizada como a perda lenta e gradual da eficácia do fungicida (ZAMBOLIM; VENÂNCIO; OLIVEIRA, 2007).

A seleção de linhagens resistentes também pode ocorrer de forma descontínua ou de forma contínua. A seleção descontínua é típica de resistência oligogênica ou qualitativa, ocorrendo repentinamente, levando a quase completa perda da eficiência do fungicida. A seleção contínua, poligênica, típico processo quantitativo, ocorre mais lentamente e dificilmente chega a completa ineficiência do fungicida, sendo possível a adoção de medidas anti-resistência (ZAMBOLIM; VENÂNCIO; OLIVEIRA, 2007).

Além da base genética da resistência são considerados fatores de risco: a adaptabilidade de linhagens na presença ou ausência do fungicida, a natureza do patógeno e da doença e a pressão de seleção exercida pelo fungicida (DEKKER, 1995).

Os fatores de risco relacionados aos fungos levam em consideração a taxa de esporulação, modo de reprodução, quantidade de inóculo produzido, modo de dispersão e sobrevivência do organismo. Fungos que possuem reprodução sexuada e assexuada, que produzem grandes quantidades de conídios, dispersam-se pelo vento e possuem capacidade de sobreviver em hospedeiros alternativos no campo e no solo favorecem a seleção de mutantes resistentes. Os fatores relacionados aos fungicidas estão relacionados ao modo de ação e capacidade de persistir ativamente nos tecidos das plantas. A intensidade do uso dos fungicidas sistêmicos está relacionada com o número de aplicações e as dosagens utilizadas (ZAMBOLIM; VENÂNCIO; OLIVEIRA, 2007).

Os estudos de análise de risco de fungicidas e o monitoramento de combinações patógeno-hospedeiro-fungicida, são de extrema importância para a adoção de estratégia anti-resistência. Os testes de sensibilidade de fungos são utilizados antes da introdução de um novo produto e no monitoramento ao longo do tempo. Esses estudos são denominados “base-line”, onde através deles se podem obter dados de variabilidade inicial quanto à introdução de um novo fungicida e o reconhecimento de linhagens resistentes em comparação a linhagens sensíveis (GHINI; KIMATI 2000).

Os estudos de “base-line” também visam desenvolver metodologias apropriadas para avaliação de risco e monitoramento de resistência. Os métodos utilizados nesses estudos não devem interferir nas características do fungicida tanto quanto no comportamento do fungo em estudo (GHINI; KIMATI 2000).

Nos casos onde a resistência é controlada por poucos genes, com frequência inferior a 1%, no campo, dificilmente são detectados pelos métodos disponíveis, pois a perda de controle pode ocorrer subitamente com uma ou duas aplicações. Desse modo, uma previsão precoce do risco somente pode ser feita analisando um número muito elevado de isolados. Estima-se que 300 isolados devem ser testados para se ter 95% de chance de se detectar resistência na frequência de 1% (BRENT; HOLLON, 1998). Mesmo assim, os métodos são úteis quando, devido a características inerentes ao fungo, ocorre o retardamento do desenvolvimento de resistência, geralmente quando o patógeno apresenta poucos ciclos reprodutivos ao longo do ano e os mutantes apresentam baixa adaptabilidade. Um exemplo foi a resistência de *Botrytis cinerea* Pers. a dicarboximidas, detectado antes que o problema tomasse grandes proporções, nesse caso as linhagens resistentes apresentavam menor sobrevivência na ausência do fungicida em comparação às linhagens selvagens (DEKKER; GEORGOPOULOS, 1982).

Para resistência poligênica, os trabalhos de “base-line” são importantes na indicação de risco de resistência. Nesse caso a resistência ocorre devido à perda gradual de sensibilidade, por estar envolvida com uma série de mutações em diversos genes. Para estes testes as amostras de isolados podem ser menores, porque substancial parte da população está envolvida e a frequência de mutantes resistentes é aumentada (GHINI; KIMATI 2000).

Os primeiros casos de resistência de fungos a fungicidas foram detectados com o produto bifenil, um hidrocarboneto aromático usado desde 1959 para o controle de *Penicillium* em tratamento pós-colheita em citros (OGAWA; MANJI; EL-BEHADLI, 1976). No Brasil os primeiros casos relatados apareceram em 1974 e aumentaram rapidamente nas décadas seguintes em sua maioria associadas ao benomil. Com relação a fungos do gênero *Alternaria* os primeiros

casos de resistência ocorreram com *Alternaria dauci* (Kuhn.) de cenoura resistente ao iprodione (FANCELLI; KIMATI, 1988).

Em vários países já foram relatados casos de resistência de *A. brassicae* e *A. brassicicola* a iprodione. Experimentos demonstraram que isolados resistentes produziram maior número de conídios por colônia. Somente os isolados resistentes foram capazes de produzir lesões em discos de folhas de brócolis pulverizadas com 50 µg de ingrediente ativo (i.a.) por mL. Conídios de isolados resistentes germinaram em água destilada com concentração de 250 µg i.a./mL, enquanto os conídios de isolados sensíveis foram inibidos com 5 µg i.a./mL (HUANG, LEVY, 1995). Na França, foram relatados casos de isolados de *A. brassicicola* altamente resistentes a dicarboximida ($EC_{50} > 100 \text{mg/L}$) para iprodione, procimidone e fludioxonil. Estes isolados exibiram alta capacidade de esporulação e elevada agressividade em comparação aos isolados sensíveis, sendo este o primeiro relato de isolados com alto grau de resistência cruzada a dicarboximida e fenilpirroles (IACOMI-VASILESCU et al., 2004). Alguns trabalhos demonstram que populações podem ser definidas com base na resistência a fungicidas, onde os isolados podem ser diferenciados através de uma distribuição de sensibilidade, caracterizada pelo valor da dose capaz de inibir 50% do crescimento micelial (DL_{50}) (HAU; VALLAVIEILLE-POPE, 2006). Fungos produtores de esporos assexuais multinucleados como *A. brassicicola* (ELLIS, 1971), podem produzir micélio heterocariótico contendo núcleos sensíveis e resistentes ao fungicida. Estes heterocárions são capazes de crescer na presença ou ausência de fungicidas, capacitando o patógeno manter núcleos resistentes e sensíveis (SUMMERS; HEANEY; GRINDLE, 1984). A presença de isolados com baixa sensibilidade depende entre outros fatores da pressão de seleção exercida pela frequência de aplicação do fungicida (KENDALL; HOLLOMON, 1998). Em trabalhos relacionados ao estudo de variabilidade de isolados de *A. brassicicola* através da correlação entre a sensibilidade a iprodione em Pernambuco não se observou muita validade para separação de subgrupos, isso foi atribuído principalmente ao fato desse fungicida não ser amplamente utilizado para o controle de alternariose em brássicas nesse estado (AZEVEDO; MICHEREFF; MARIANO, 2000).

Os mecanismos envolvidos na resistência de fungos ainda são pouco conhecidos, o principal deles refere-se a modificações que ocorrem no sítio de ação do fungicida e diminuem a afinidade do produto. Outros mecanismos podem estar associados à utilização de rotas metabólicas alternativas ao sítio de ação, à redução da absorção ou o aumento do efluxo do fungicida, à não conversão do produto ao ingrediente ativo, a um aumento compensatório na

produção da enzima alvo do fungicida e a detoxificação do produto (SISLER, 1988; BRENT, 1995; GHINI; KIMATI, 2000).

As relações fisiológicas associadas ao desenvolvimento de resistência pela célula fúngica, influenciam, positiva ou negativamente outros processos vitais do organismo, entre eles está sua aptidão para infecção, a velocidade de colonização dos tecidos do hospedeiro e a capacidade de esporulação e sobrevivência, as quais afetam sua patogenicidade e adaptabilidade ao meio (GHINI; KIMATI, 2000). Correlações negativas entre resistência a fungicidas e adaptabilidade foram observadas em algumas espécies fúngicas. Em trabalhos com *Sclerotinia minor* Jagger notou-se que a patogenicidade declinou ao longo do tempo após 10 meses de resistência induzida com a aplicação de iprodione (HUBBARD; SUBBARAO; KOIKE, 1997). Em alguns casos subpopulações resistentes podem apresentar adaptabilidade igual ou superior a das sensíveis (GHINI; KIMATI, 2000). Em ensaios com *Mycosphaerella fijiensis* M. Morelet resistentes ao benomil foi observado maior patogenicidade à bananeira (ROMERO; SUTTON, 1998). O monitoramento da resistência é de extrema importância para se prever seu aparecimento e assim desenvolver estratégias para evitá-la (BRENT, 1995).

Os estudos de resistência de fungos a fungicidas são justificados pelo amplo uso desses produtos nos sistemas agrícolas, pela grande diversidade de grupos químicos e pela introdução de novos produtos sistêmicos, dessa forma os trabalhos que venham a fortalecer o conhecimento sobre populações fúngicas diante do tratamento químico submetido, são de grande importância (AZEVEDO, 2007).

Apesar das diferenças marcantes nas estratégias de manejo da alternariose nos sistemas de produção convencional e orgânico, inexistem estudos comparando isolados de *A. brassicicola* oriundos desses dois sistemas em relação à sensibilidade aos principais grupos de fungicidas. Informações sobre a sensibilidade de isolados a fungicidas são essenciais para a avaliação, implementação e redirecionamento de estratégias de manejo de doenças de plantas, além de possibilitarem o melhor entendimento da estrutura populacional do patógeno e dos processos de dispersão do inóculo (BROWN, 2006).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade de isolados de *A. brassicicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos de brássicas de Pernambuco a fungicidas sistêmicos dos grupos dicarboximidas, estrobilurinas e triazóis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, L. A. S. **Fungicidas sistêmicos - Teoria e prática**. Campinas: EMOPI, 2007. 290 p.

AZEVEDO, S. S.; MARIANO, R. L. R.; MICHEREFF, S. J. Epidemiologia comparativa da podridão negra e da alternariose do repolho no Agreste de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n.1, p.17-26, 2002.

AZEVEDO, S. S.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Levantamento da intensidade da podridão negra e da alternariose do repolho no Agreste de Pernambuco e determinação do tamanho das amostras para quantificação dessas doenças. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 299-306, 2000.

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

BRENT, K. J. 1995. **Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed?** Brussels: GCPF, 1995. 49 p. (FRAC Monograph, 1).

BROWN, J. K. M. Surveys of variation in virulence and fungicide resistance and their application to disease control. In: COOKE, B.M.; JONES, D.G.; KAYE, B. (Eds.). **The epidemiology of plant diseases**. 2. ed. Dordrecht: Springer, 2006. p. 81-115.

CHAKRABORTY, S. et al. Field evaluation of quantitative resistance to anthracnose in *Stylosanthes scabra*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 80, n. 1, p. 1147-1154, 1990.

DEKKER, J.; GEORGOPOULOS, S. G. **Fungicide Resistance in crop protection**. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. 265 p.

DEKKER, H. Development of resistance to modern fungicides and strategies for its avoidance. In: LYR, H. (Ed.). **Modern selective fungicides: properties, applications, mechanisms of action**. 2. ed. New York: Gustav Fisher, 1995. p. 23-38.

DELP, C. J.; DEKKER, E.J. Fungicide-resistance: definitions and use of terms. **EPPO Bulletin**, Paris, v.15, n. 3, p.333-335. 1985.

EDGINGTON, L. V. et al. Systemic fungicides: a perspective after 10 years. **Plant Disease**, St. Paul, v. 64, n. 1, p. 19-23, 1980.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971. 512 p.

FANCELLI, M. I.; KIMATI, H. Ocorrência de linhagens de *Alternaria dauci* resistentes ao fungicida iprodione no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 14, n. 1-2, p. 51, 1988.

FAO. FAOSFAT - **Agricultural statistics database**. Rome: World Agricultural Information Centre, 2008. Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acesso em: 26 fev. 2008.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2000. 402 p.

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

HABTU, A.; ZADOKS, J. C. Components of partial resistance in phaseolus beans against an Ethiopian isolate of bean rust. **Euphytica**, Dordrecht, v. 83, n. 2, p. 95-102, 1995.

HAU, B.; VALLAVIEILLE-POPE, C. Wind-dispersed diseases. In: COOKE, B. M.; JONES, D. G.; KAYE, B. (Eds.). **The epidemiology of plant diseases**. 2 ed. Dordrecht: Springer, 2006. p. 387-408.

HOLLIDAY, P. **Fungus diseases of tropical crops**. Cambridge: Cambridge University Press, 1980. 607 p.

HUANG, R.; LEVY, Y. Characterization of iprodione resistant isolates of *Alternaria brassicicola*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 8, p. 828-833, 1995.

HUBBARD, J. C.; SUBBARAO, K. V.; KOIKE, S. T. Development and significance of dicarboximide resistance in *Sclerotinia minor* isolates from commercial lettuce fields in California. **Plant Disease**, St. Paul, n. 81, n. 2, p. 148-153, 1997.

HUMPHERSON-JONES, F. M.; HOCART, M. J. *Alternaria* diseases of *Brassica* seed crops. In: ANNUAL REPORT NATIONAL VEGETABLE RESEARCH STATION, 33., 1982, Wellesbourne. **Abstracts...** Wellesbourne: National Vegetable Research Station, 1983. p. 63-64.

HUMPHERSON-JONES, F. M.; MAUDE, R. B. Studies on the epidemiology of *Alternaria brassicicola* in *Brassica oleracea* seed production crops. **Annals of Applied Biology**, London, v. 100, p. 61-71, 1982.

HUMPHERSON-JONES, F. M.; PHELPS, K. Climatic factors influencing spore production in *Alternaria brassicae* and *Alternaria brassicicola*. **Annals of Applied Biology**, London, v. 114, p. 449-459, 1989.

IACOMI-VASILESCU, B. et al. In vitro fungicide sensitivity of *Alternaria* species pathogenic to crucifers and identification of *Alternaria brassicicola* field isolates highly resistant to both dicarboximides and phenylpyrroles. **Crop Protection**, Oxford, v. 23, n. 6, p. 481-488, 2004.

IBGE. **SIDRA 96 - Sistema IBGE de recuperação automática**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1996. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>> Acesso em: 11 jan. 2008.

IPA/CEAGEPE/EMATER-PE. **Sistema integrado de produção de repolho (*Brassica oleraceae* var. *capitata*) para o Estado de Pernambuco**. Vitória de Santo Antão: IPA, 1997. 41 p. (Sistema Integrado de Produção, 5).

KENDALL, S. J.; HOLLOMON, D. W. Fungicide resistance. In: HUTSON, D.H.; MIYAMOTO, J. (Eds.). **Fungicidal activity**. New York: John Wiley & Sons, 1998. p. 87-108.

KIMATI, H. Evolução dos fungicidas. **Summa Phytopathologica**, v. 22, n. 1, p. 79-80, 1996.

KOIKE, S. T.; GLADDERS, P.; PAULUS, A. O. **Vegetable diseases: a color handbook**. San Diego: Academic Press, 2006. 320 p.

MARINGONI, A. C. Doenças das crucíferas (brócolis, couve, couve-chinesa, couve-flor, rabanete, repolho e rúcula). In: KIMATI, H. et al. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2. p.285-291.

MAROTO-BORREGO, J. V. M. **Horticultura herbacea especial**. Madrid: Mundi-Prensa, 1995. 615 p.

OGAWA, J. M.; MANJI, B. T.; EL-BEHADLI, A. H. Tolerance in plant pathogens to fungicides and bactericides. **Fungicide and Nematicide Tests**, London, v. 31, p. 3-8, 1976.

PALTI, J. **Cultural practices and infectious crop diseases**. Berlin: Springer-Verlag, 1981. 243 p.

PARLEVLIEP, J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 17, p. 203-222, 1979.

PENTEADO, S. R. **Introdução à agricultura orgânica: normas e técnicas de cultivo**. Campinas: Grafimagem, 2000. 110 p.

PERUCH, L. A. M.; MICHEREFF, S. J. Sobrevivência saprofítica de *Alternaria brassicicola* e manejo de restos foliares de brócolos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 13-18, 2007.

PERUCH, L. A. M.; MICHEREFF, S. J.; ARAÚJO, I. B. Levantamento da intensidade da alternariose e podridão negra em cultivos orgânicos de brássicas em Pernambuco e Santa Catarina. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 464-469, 2006.

REIFSCHNEIDER, F. J. B.; SIQUEIRA, C. B.; CORDEIRO, C. M. T. **Índice de doenças de hortaliças no Brasil**: bactérias e fungos. Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1983. 156 p.

RODRIGUES, V. J. L. B. et al. Epidemiologia da alternariose da couve-chinesa em diferentes sistemas e práticas de cultivo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 2, p. 219-225, 2004a.

RODRIGUES, V. J. L. B. et al. Epidemiologia comparativa da alternariose em cultivares de brássicas sob cultivo convencional e orgânico. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 2, p. 226-233, 2004b.

ROMERO, R. A.; SUTTON, T. B. Characterization of benomyl resistance in *Mycosphaerella fijensis*, cause of black sigatoka of banana, in Costa Rica. **Plant Disease**, St. Paul, v. 82, n. 8, p. 931-934, 1998.

RUSH, C. H.; HARVESON, R. M.; PICCINNI, G. Agronomic measures. In: RECHCIGL, N.A.; RECHCIGL, J.E. (Eds.). **Environmentally safe approaches to crop disease control**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1997. p. 243-282.

SAHARAN, G. N., MEHTA, N., SANGWAN, M. S. **Diseases of oilseed crops**. New Delhi: Indus Publishing, 2005. 643p.

SILVA JÚNIOR, A. A. **Repolho**: fitologia, fitotecnia, tecnologia alimentar e mercadologia. Florianópolis: EMPASC, 1989. 295 p.

SISLER, H. D. Fungicidal action and fungal resistance mechanism. In: DELP, C.J. (Ed.). **Fungicide resistance in north in North America**. St. Paul: APS Press, 1988. p. 6-8.

STAUB, T.; SOZZI, D. Fungicide resistance. **Plant Disease**, St. Paul, v. 86, n.12, p. 1026-1031, 1984.

SUMMERS, R. W.; HEANEY, S. P.; GRINDLE, M. Studies of dicarboximide resistant heterokaryon of *Botrytis cinerea*. In: BRINGTON CROP PROTECTION CONFERENCE, 23., 1984, Brighton, England. **Proceedings ...** p, 453-458.

TEWARI, J. P.; MITHEN, R. F. Diseases. In: GÓMEZ-CAMPO, C. (Ed.). **Biology of brássicas coenospecies**. Amsterdam: Elsevier, 1999. p. 375-411.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J. Alternarioses em hortaliças: sintomas, etiologia e manejo integrado. **O Biológico**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 23-33, 2004.

TOKESHI, H.; SALGADO, H. Doenças das crucíferas (brócolis, couve-flor, rabanete e repolho). In: GALLI, F. (Coord.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v. 2. p. 236-250.

VAN BRUGGEN, A. Switching over to organic farming systems: consequences for plant pathological research. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.27, n.1, p.145, 2001.

VERMA, P. R.; SAHARAN, G. S. **Monograph on Alternaria diseases of crucifers**. Saskatoon: Minister of Supply and Services Canada, 1994. 162 p.

YAMAGUCHI, I.; FUJIMURA, M. Recent topics on action mechanisms of fungicides. **Journal of Pesticide Science**, Tokyo, v.30, n. 1, p. 67-74, 2005.

ZAMBOLIM, L. et al. Doenças de hortaliças em cultivo protegido. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. (Eds.). **Controle de doenças de plantas – hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000. p. 373-407.

ZAMBOLIM, L. ; VENÂNCIO, W. S. ; OLIVEIRA, S. H. F. **Manejo da resistência de fungos a fungicidas**. Viçosa: UFV, 2007. 168 p.

Capítulo II

**Sensibilidade de isolados de *Alternaria brassicicola*
(Schw.) Wilt. de cultivos convencionais e orgânicos de
brássicas a fungicidas**

SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE ALTERNARIA BRASSICICOLA DE CULTIVOS CONVENCIONAIS E ORGÂNICOS DE BRÁSSICAS A FUNGICIDAS

Cícero Nicolini

Eng. Agrônomo, UFRPE, Departamento de Agronomia/Fitossanidade, Av. D. Manoel de medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, e-mail: ciceronicolini@yahoo.com.br.
Bolsista CNPq.

Nelson Dias Suassuna

Eng. Agrônomo, DSc, Embrapa Algodão (CNPq), 58107-720, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

Péricles de Albuquerque Melo Filho

Prof. Adjunto, UFRPE, Departamento de Agronomia/Fitossanidade, Av. D. Manoel de medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, e-mail: pericles@depa.ufrpe.br.

Marcos Paz Saraiva Câmara

Prof. Adjunto, UFRPE, Departamento de Agronomia/Fitossanidade, Av. D. Manoel de medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, e-mail: mcamara@depa.ufrpe.br.

Sami Jorge Michereff

Prof. Adjunto, UFRPE, Departamento de Agronomia/Fitossanidade, Av. D. Manoel de medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, e-mail: sami@depa.ufrpe.br.
Bolsista Produtividade CNPq.

RESUMO - A alternariose é uma das doenças mais comuns e destrutivas das brássicas, podendo ser causada por várias espécies de *Alternaria*, embora *A. brassicicola* seja a espécie predominante em plantios convencionais e orgânicos no Brasil. Como inexitem cultivares comerciais de brássicas com níveis aceitáveis de resistência à doença, no sistema de produção convencional o controle da doença se baseia na aplicação de fungicidas, enquanto no sistema orgânico em métodos culturais. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade de 112 isolados de *A. brassicicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos de brássicas a fungicidas dos grupos dicarboximidas (iprodiona), triazóis (tebuconazol) e estrobilurinas (azoxistrobina). Os isolados foram avaliados *in vitro* visando obter a concentração capaz de inibir 50% do crescimento micelial (CL₅₀) e separados em quatro classes dependendo da sua sensibilidade aos fungicidas testados. Todos os isolados de *A.*

brassicicola foram sensíveis a iprodiona, com valores de CL₅₀ inferiores a 0,1 mg i.a./L. A maioria dos isolados oriundos de cultivos convencionais (92,9%) e orgânicos (96,4%) se comportou como medianamente resistente a azoxystrobin, enquanto um isolado (CFM-576) foi altamente resistente. Em relação à tebuconazol, foram constatados somente isolados sensíveis (42,9%) e ligeiramente resistentes (57,1%). Não foi encontrada diferença significativa entre os isolados de *A. brassicicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos, bem de diferentes espécies de brássicas, quanto aos níveis de sensibilidade aos fungicidas.

Palavras-chave: alternariose; Brassicaceae; resistência a fungicidas; azoxystrobin; iprodiona; tebuconazol.

SENSITIVITY OF ISOLATES OF *Alternaria brassicicola* OF CONVENTIONAL AND ORGANIC CULTURAL SYSTEM OF BRASSICAS TO FUNGICIDES

ABSTRACT - The *Alternaria* black spot is one of the most common and destructive diseases of brassica species. This disease can be caused by several species of *Alternaria*, although *A. brassicicola* is predominant species in both conventional and organic crops in Brazil. Since commercial cultivars of brassica with acceptable levels of disease resistance are not available, the disease control in conventional production system is based on the fungicide applications, while in the organic production system the disease control on relays on cultural methods. The objective of this study is to assess the sensitivity of 112 isolates of *A. brassicicola* to fungicide groups: benzimidazoles (carbendazim), dicarboximides (iprodione), triazoles (tebuconazole) and strobilurines (azoxystrobin). The isolates were evaluated *in vitro* to obtain the concentration capable of inhibiting 50% of the mycelial growth (CL₅₀) and separated in four classes depending on the sensibility to the tested fungicides. All the isolated of *A. brassicicola* were sensitive the iprodione, with CL₅₀ values below to 0.1 mg i.a./L. Most of the isolates originating from conventional (92.9%) and organic (96.4%) were middling

resistant the azoxystrobin, while an isolated (CFM-576) was highly resistant. In relation to tebuconazole, only isolated sensitive (42.9%) and lightly resistant (57.1%) were observed. There was no significant difference between the isolates of *A. brassicicola* originated either from conventional or organic systems and brassica types regarding the levels of sensitivity to the fungicides.

Key words: Alternariose Black spot, Brassicae, fungicide resistance, iprodione, azoxystrobin, tebuconazole.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o cultivo de brássicas tem destacada importância nos sistemas de produção convencional (com uso de fungicidas) e orgânico (sem uso de fungicidas), mas a produtividade e a qualidade dos produtos podem ser drasticamente afetadas pela ocorrência da alternariose (RODRIGUES *et al.*, 2004a; PERUCH *et al.*, 2006). Em levantamentos realizados no Estado de Pernambuco, um dos principais produtores de brássicas no Nordeste brasileiro, a prevalência da alternariose foi de 95% em plantios convencionais de repolho (*B. oleracea* var. *capitata* L.) nas safras 1997 e 1998 (AZEVEDO *et al.*, 2000) e de 100% em cultivos orgânicos de brócoli (*B. oleracea* var. *italica* L.) e couve-flor (*B. oleracea* var. *botrytis* L.) na safra 2001 (PERUCH *et al.*, 2006).

Mundialmente, a alternariose é uma das doenças mais comuns e destrutivas das brássicas, podendo afetar as plantas em todos os estádios de desenvolvimento. Os sintomas típicos incluem lesões necróticas negras nas plântulas, folhas, caules e silíquias. As reduções no rendimento são resultantes, principalmente, da diminuição do potencial fotossintético e da aceleração da senescência (VERMA & SAHARAN, 1994; SAHARAN *et al.*, 2005; KOIKE *et al.*, 2006).

A alternariose pode ser causada por várias espécies do gênero *Alternaria*, mas *A. brassicicola* (Schwn.) Wilt. e *A. brassicae* (Berk.) Sacc. são as mais frequentes em diversos países (VERMA & SAHARAN, 1994; SAHARAN *et al.*, 2005; KOIKE *et al.* 2006). No Brasil, *A. brassicicola* tem sido a espécie predominante em plantios convencionais e orgânicos de brássicas (AZEVEDO *et al.*, 2000; MICHEREFF *et al.*, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2004a; RODRIGUES *et al.*, 2004b; PERUCH *et al.*, 2006; PERUCH & MICHEREFF, 2007).

Como inexistem cultivares comerciais de brássicas com níveis aceitáveis de resistência à alternariose (TEWARI & MITHEN, 1999; RODRIGUES *et al.*, 2004a; SAHARAN *et al.*, 2005), o controle químico vem sendo a maneira que os produtores tem encontrado para combater a enfermidade. Entre os principais grupos de fungicidas encontrados no mercado, que apresentam controle para o fungo, destacam-se as dicarboximidas, carbamatos, benzimidazóis, triazóis e estrobilurinas (IACOMI-VASILESCU *et al.*, 2004; TÖFOLI & DOMINGUES, 2006), sendo que em Pernambuco são utilizados principalmente os triazóis e as estribirulinas. Devido às limitações impostas pelo sistema de produção orgânico, o controle da alternariose se baseia entre outras coisas, no tratamento térmico de sementes, eliminação de restos culturais e rotação de culturas (RODRIGUES *et al.*, 2004b). Apesar das diferenças marcantes nas estratégias de manejo da alternariose nos sistemas de produção convencional e orgânico, inexistem estudos comparando isolados de *A. brassicicola* oriundos desses dois sistemas em relação à sensibilidade aos principais grupos de fungicidas.

Informações sobre a sensibilidade de isolados a fungicidas são essenciais para a avaliação, implementação e redirecionamento de estratégias de manejo de doenças de plantas, além de possibilitarem o melhor entendimento da estrutura populacional do patógeno e dos processos de dispersão do inóculo (BROWN, 2006).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a sensibilidade de isolados de *A. brassicicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos de brássicas a fungicidas sistêmicos dos grupos dicarboximidas, estrobilurinas e triazóis.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolados fúngicos - Foram utilizados 112 isolados de *A. brassicicola*, obtidos de diferentes áreas de cultivo de brássicas durante levantamento da intensidade da alternariose no Estado de Pernambuco, Brasil (PERUCH *et al.*, 2006). A metade dos isolados foi oriunda de cultivos convencionais e a outra metade de cultivos orgânicos. De cada sistema de cultivo foram utilizados isolados obtidos de brócoli, couve-flor, couve-manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.) e repolho, sendo 14 isolados de cada espécie (Tabela 1). Todos os isolados foram purificados por isolamento monospórico e a identificação confirmada com base na morfologia de conídios e conidióforos (ELLIS, 1971). Os isolados foram mantidos em tubos com meio batata-dextrose-ágar (BDA) a 5 °C e para obtenção do inóculo a ser utilizado nos testes de sensibilidade a fungicidas, subculturas foram feitas pela transferência de fragmentos de hifas para placas de Petri com meio BDA.

Fungicidas - Os ingredientes ativos testados foram iprodiona (Rovral SC, 50% p.a., Bayer CropScience, Brasil), azoxistrobina (Amistar, 50% p.a., Syngenta Proteção de Cultivos, Brasil) e tebuconazol (Folicur 200 CE, 20% p.a., Bayer CropScience, Brasil). Esses ingredientes ativos possuem atividade sistêmica e modo de ação específico: inibidor da divisão celular (iprodiona), inibidor da respiração (azoxistrobina) e inibidor da biossíntese de ergosterol (tebuconazol). Para cada ingrediente ativo foram preparadas soluções estoque de 10.000 e 1.000 mg/L diluído em dimetil sulfoxido (DMSO). O ajuste das doses a serem usadas foi realizado previamente, utilizando doses em escala logarítmica de 0, 0,01, 0,1, 1, 10

e 100 mg/L. As doses da solução estoque foram incorporadas em meio BDA em temperatura entre 45 e 50°C para obter concentrações entre 0, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1 e 5 mg/L para iprodiona, 0, 0,1, 1, 5, 10, 50, 100 e 200 mg/L para azoxistrobina e 0, 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5 e 1 mg/L para tebuconazol. O volume de DMSO adicionado ao meio foi menor que 1%.

Ação fungicida sobre o crescimento micelial - Discos de micélio de 5 mm de diâmetro foram retirados da borda de colônias com 7 dias de idade e transferidos para placas com BDA contendo as alíquotas de cada fungicida que foram testados em quatro repetições. A avaliação baseou-se na medida do crescimento radial da colônia em um único sentido após 6 dias de incubação em temperatura média de 25 °C. Para cada combinação concentração/fungicida, a média das quatro repetições foi usada para calcular a inibição do crescimento radial da colônia (ICC) de cada isolado *i* como $ICC_i = [(RMC_c - RMC_i / RMC_c) \times 100]$, onde RMC_c = raio médio da colônia no controle (sem adição de fungicida) e RMC_i = raio médio da colônia para o isolado *i*. Para cada repetição de cada combinação isolado/concentração de fungicida, os valores calculados de ICC foram submetidos a regressão linear pelo logaritmo (\log_{10}) da concentrações de fungicidas para estimar a dose necessária para inibir 50% do crescimento micelial (CL50).

Os isolados de *A. brassicicola* foram separados em quatro classes dependendo da sua sensibilidade aos fungicidas testados, como: sensível (S) = valores de CL50 entre 0,1 e 1 mg/L; ligeiramente resistente (LR) = valores de CL50 entre >1 e 10 mg/L; medianamente resistente (MR) = valores de CL50 entre >10 e 100 mg/L; altamente resistente (AR) = valores de CL50 acima de 100 mg/L (IACOMI-VASILESCU *et al.*, 2004).

Os valores de CL50 foram também distribuídos em intervalos regulares para comparação da distribuição das freqüências dos isolados nos sistemas de cultivo e hospedeiros. Para cada fungicida testado, as comparações da distribuição das freqüências de CL50 entre os sistemas

de cultivo e hospedeiros foram realizadas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para verificação da existência de resistência cruzada aos fungicidas entre os isolados, foi efetuada a análise de correlação de Pearson ($P=0,05$) com a utilização dos dados de CL50 dos fungicidas dentro de cada sistema de cultivo e espécie de brássica. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SAS versão 9.1 (SAS Institute, Cary, NC).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os isolados de *A. brassicicola* foram sensíveis a iprodiona, com valores de CL50 inferiores a 0,1 mg i.a./L, variando entre 0,377 mg i.a./L e 0,899 mg i.a./L. A distribuição da frequência dos valores de CL50 nos sistemas de cultivo orgânico e convencional foi similar ($KSa = 0,426401$, $P = 0,9934$) (Figura 1).

Não houve diferença significativa quando comparada a distribuição dos valores de CL50 estimados para o fungicida iprodiona em todas as combinações par a par nos hospedeiros de origem dos isolados: brócoli e couve-flor ($KSa = 0,639602$, $P = 0,8079$), brócoli e couve-manteiga ($KSa = 0,426401$, $P = 0,9934$), brócoli e repolho ($KSa = 0,426401$, $P = 0,9934$), couve-flor e repolho ($KSa = 0,639602$, $P = 0,8079$), couve-flor e couve-manteiga ($KSa = 0,852803$, $P = 0,4611$) e repolho e couve-manteiga ($KSa = 0,426401$, $P = 0,9934$) (Figura 2).

Para o fungicida azoxistrobina, os valores de CL50 dos isolados de *A. brassicicola* variaram de 4,429 mg i.a./L a 111,272 mg i.a./L. Somente o isolado CFM-576, originário de cultivo convencional de couve-comum, se comportou como altamente resistente, com CL50 superior a 100 mg i.a./L. A maioria dos isolados oriundos de cultivos convencionais (92,9%) e orgânicos (96,4%) se comportou como medianamente resistente a azoxistrobina, com valores de CL50 entre 10 e 100 mg/L, enquanto nenhum isolado dos dois sistemas de cultivo foi considerado sensível (Figura 3).

Não houve diferença significativa entre os sistemas de cultivo convencional e orgânico na distribuição dos valores de CL50 ($KSa = 0,377964$, $P = 0,9988$) (Figura 1). As comparações da distribuição dos valores de CL50 estimados para o fungicida azoxistrobina em todas as combinações par a par dos hospedeiros de origem dos isolados não foram significativas: brócoli e couve-flor ($KSa = 0,188982$, $P = 1,0000$); brócoli e couve manteiga ($KSa = 0,377964$, $P = 0,9988$), brócoli e repolho ($KSa = 0,214286$, $P = 0,9988$), repolho e couve-flor ($KSa = 0,188982$, $P = 1,0000$), repolho e couve-manteiga ($KSa = 0,566947$, $P = 0,9048$) e couve-flor e couve manteiga ($KSa = 0,377964$, $P = 0,9988$) (Figura 2).

Os valores de CL50 estimados para tebuconazol variaram de 0,349 mg i.a./L a 5,844 mg i.a./L, sendo que nenhum isolado de *A. brassicicola* se comportou como medianamente resistente ou altamente resistente. Nos dois sistemas de produção a frequência de isolados sensíveis (42,9%) e ligeiramente resistentes (57,1%) foi a mesma (Figura 3). A distribuição dos valores de CL50 nos dois sistemas de produção avaliados não diferiu estatisticamente ($Ksa = 0,204124$, $P = 1,0000$), (Figura 1). Também não houve diferença estatística significativa na distribuição dos valores de CL50 estimados para o fungicida tebuconazol em todas as combinações par a par nos hospedeiros de origem dos isolados: brócoli e couve-flor ($KSa = 0,40824$, $P = 0,9963$), brócoli e couve-manteiga ($KSa = 0,204124$, $P = 1,0000$), brócoli e repolho ($KSa = 0,612372$, $P = 0,8475$), couve-flor e couve-manteiga ($KSa = 0,408248$, $P = 0,996$), couve-flor e repolho ($KSa = 0,408248$, $P = 0,9963$), couve-manteiga e repolho ($KSa = 0,612372$, $P = 0,8475$) (Figura 2).

Não foram constatadas correlações significativas entre os níveis de CL50 dos diferentes fungicidas, independentemente do sistema de cultivo e da espécie de brássica de origem do isolado de *A. brassicicola*.

DISCUSSÃO

A alta sensibilidade de todos os isolados de *A. brassicicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos de brássicas de Pernambuco ao fungicida iprodiona, pode ser devido à não utilização desse fungicida para o controle da alternariose das brássicas no estado (AZEVEDO *et al.*, 2000), pois a acumulação de mutantes resistentes em populações fúngicas depende, entre outros fatores, da pressão de seleção exercida pela frequência de aplicação do fungicida (KENDALL & HOLLOWAY, 1998). Os resultados discordam da observação de Michereff *et al.* (2003) sobre a presença de isolados de *A. brassicicola* de Pernambuco com baixa sensibilidade a iprodiona, bem como do constatado por Huang & Levy (1995) e Iacomivasilescu *et al.* (2004), que em estudos realizados em Israel e na França, verificaram uma distribuição polimodal em categorias distintas de resistência a esse fungicida entre isolados de *A. brassicicola*, incluindo isolados altamente resistentes.

O uso de estrobilurinas, como azoxistrobina, tem sido proposto como uma boa opção em programas controle da alternariose das brássicas (IACOMI-VASILESCU *et al.*, 2004), tendo em vista terem sido modeladas a partir de produtos naturais, apresentarem um amplo espectro de atividade, um único mecanismo de ação bioquímico e poderem ser utilizadas tanto em tratamento foliar como de sementes (BARTLETT *et al.*, 2002). No entanto, a constatação de um isolado altamente resistente a azoxistrobina (CFM-576) é preocupante e indica a probabilidade de existência de sub-populações com essa característica. Existe o risco dessas sub-populações de *A. brassicicola* virem a predominar no futuro, tendo em vista que características como elevada taxa de esporulação, eficiente disseminação do inóculo pelo vento e sobrevivência em vários hospedeiros favorece a seleção de mutantes resistentes (ZAMBOLIM *et al.*, 2007).

A classificação da maioria dos isolados de *A. brassicicola* utilizados nesse estudo como medianamente resistente a azoxistrobina assemelha-se ao constatado para isolados de *A. alternata* (Fr.) Keiss oriundos de maçã (*Malus domestica* L.), cujo valor médio de CL50 foi de

80 mg i.a./L (REUVENI & SHEGLOV, 2002). A baixa sensibilidade micelial a determinadas estrobilurinas, também constatada em outras espécies fúngicas, é associada à indução da respiração alternativa que cataliza a transferência de elétrons para o oxigênio (ZIOGAS *et al.*, 1997; OLAYA & KÖLER, 1999; YPEMA & GOLD, 1999; FERREIRA *et al.*, 2006). Essa rota alternativa é utilizada por fungos que crescem em meios com ágar, especialmente aqueles ricos em nutrientes (REUVENI & SHEGLOV, 2002).

A inexistência de isolados de *A. brassicola* altamente e medianamente resistentes a tebuconazol verificado nesse estudo, apesar de intensiva utilização para o controle da alternariose das brássicas, pode ser decorrente do modo de ação dos fungicidas inibidores da síntese de ergosterol (triazóis). Ao investigarem a alta sensibilidade do crescimento micelial de *A. alternata* em meio BDA a esse fungicida, Koller & Scheinpflug (1987) atribuíram esse fato à inibição da rota que ocorre durante a conversão de lanosterol a ergosterol, embora esses inibidores tenham ação menos eficiente sobre a esporulação. Existem poucos relatos com triazóis em relação a *A. brassicola*, porém Iacomi-Vasilescu *et al.* (2004) encontraram valores de CL50 entre 0,35 e 0,53 mg i.a./L quando testaram difenoconazole para inibição do crescimento micelial de *A. brassicola*, indicando alta eficiência desse fungicida em inibir o crescimento micelial assemelhando-se aos verificado nesse estudo.

A similaridade nos níveis de sensibilidade dos isolados de *A. brassicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos de Pernambuco aos fungicidas pode estar associada à dinâmica do inóculo no campo. Como a alternariose é uma doença policíclica com grande produção de inóculo em plantas doentes e o vento dissemina eficientemente esse inóculo a curtas e longas distâncias (HUMPERSON-JONES & MAUDE, 1982; CHEN *et al.*, 2003), o inóculo produzido em plantas doentes de um sistema de cultivo pode ser disseminado para outro, dando início a novas infecções. No entanto, os resultados desse estudo contrastam do verificado por Ma *et al.* (2003), que ao avaliarem a sensibilidade de isolados de *A. alternata*,

Alternaria tenuissima (Kun. ex Pers.) Wilt. e *Alternaria arborescens* Simm. obtidos de pistache em relação a azoxistrobina, constataram que os isolados oriundos de áreas sem histórico de aplicação do fungicida apresentaram valores de CL50 muito baixos (0,008 a 0,045 mg i.a./L), enquanto os isolados coletados de área com freqüente aplicação do fungicida tiveram CL50 acima de 100 mg i.a./L, sendo estes considerados resistentes.

A ausência de diferenças significativas entre os isolados de *A. brassicicola* oriundos de diferentes brássicas quanto aos níveis de sensibilidade aos fungicidas pode ser conseqüência da inexistência de especificidade do hospedeiro, a exemplo do constatado em estudo de variabilidade de isolados desse patógeno da mesma região (MICHEREFF *et al.*, 2003). Uma das implicações deste fato seria quanto à dinâmica de inóculo de *A. brassicicola* na região, pois aparentemente as diferentes culturas de crucíferas podem atuar como eficientes fontes de inóculo para novos plantios.

A falta de correlação entre os níveis de CL50 dos fungicidas iprodiona, azoxistrobina e tebuconazol indica que não foi observada resistência cruzada aos fungicidas entre os isolados de *A. brassicicola*, o que já era esperado, tendo em vista os diferentes mecanismos de ação apresentados por esses fungicidas.

O presente estudo foi pioneiro na comparação da sensibilidade de isolados de *A. brassicicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos de brássicas a vários grupos de fungicidas. Os resultados obtidos constituem as bases para estudos mais aprofundados sobre a estrutura populacional desse patógeno, envolvendo os níveis de adaptabilidade fisiológica e patogênica dos isolados pertencentes aos diferentes grupos de sensibilidade.

CONCLUSÕES

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de mestrado a C. Nicolini e de produtividade em pesquisa a S.J. Michereff.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVÊDO, S. S., MICHEREFF, S. J., MARIANO, R. L. R. Levantamento da intensidade da podridão negra e da alternariose do repolho no Agreste de Pernambuco e determinação do tamanho das amostras para quantificação dessas doenças. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, p. 299-306, 2000.

BARTLETT, D. W., CLOUGH, J. M., GODWIN, J. R., HALL, A. A., HAMER, M., PARR-DORZANSKI, B. The strobilurin fungicides. **Pest Management Science**, New York, v. 58, p. 649-662, 2002.

BROWN., J. K. M. Surveys of variation in virulence and fungicide resistance and their application to disease control. *In*: Cooke, B. M., Jones, D. G., Kaye, B. (eds.). **The Epidemiology of Plant Diseases**. Springer: Dordrecht, 2006. p. 81-115.

CHEN, L. Y., PRICE, T. V., PARK-NG, Z. Conidial dispersal by *Alternaria brassicicola* on Chinese cabbage (*Brassica pekinensis*) in field and under simulated conditions. **Plant Pathology**, Saint Paul, v. 52, p. 536-545, 2003.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Commonwealth Mycological Institute: Kew, 1971. 608 p.

FERREIRA, M. F., ALFENAS, A. C., MAFFIA, L. A., MAFIA, R. G. Eficiência de fungicidas sistêmicos para o controle de *Cylindrocladium candelabrum* em eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 31, p. 468-475, 2006.

HUANG, R., LEVY, Y. Characterization of iprodione resistant isolates of *Alternaria brassicicola*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, p. 828-833, 1995.

HUMPERSON-JONES, F. M., MAUDE, R. B. Studies on the epidemiology of *Alternaria brassicicola* in *Brassica oleracea* seed production crops. **Annals of Applied Biology**, Oxford, v. 100, p. 61-71, 1982.

IACOMI-VASILESCU, B., AVENOT, H., BATAILLÉ-SIMONEAU, N., LAURENT, E., GUÉNARD, M., SIMONEAU, P. In vitro fungicide sensitivity of *Alternaria* species pathogenic to crucifers and identification of *Alternaria brassicicola* field isolates highly resistant to both dicarboximides and phenylpyrroles. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 23, p. 481-488, 2004.

KENDALL, S. J., HOLLOWAY, D. W. Fungicide resistance. *In*: HUTSON, D. H., MIYAMOTO, J. (eds.). **Fungicidal Activity: Chemical and Biological Approaches to Plant Protection**. John Wiley & Sons: New York, 1998. p. 87-108.

KOIKE, S. T., GLADDERS, P., PAULUS, A. O. **Vegetable Diseases: A color Handbook**. Academic Press: San Diego, 2006. 320 p.

KOLLER, W., SCHEINPFLUG, H. Fungal resistance to sterol biosynthesis inhibitors: a new challenge. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 71, p. 1066-1074, 1987.

MA, Z., FELTS, D., MICHAILIDES, T. J. Resistance to azoxistrobina in *Alternaria* isolates from pistachio in California. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Amsterdam, v. 77, p. 66-74, 2003.

MICHEREFF, S. J., NORONHA, M. A., ROCHA JR., O. M., SILVA, J. A., MIZUBUTI, E. S. G. Variabilidade de isolados de *Alternaria brassicicola* no estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 28, p. 656-663, 2003.

OLAYA, G., E KÖLLER, W. Baseline sensitivities of *Venturia inaequalis* populations to the strobilurin fungicide kresoxim-methyl. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 83, p. 274-278, 1999.

PERUCH, L. A. M., MICHEREFF, S. J. Sobrevivência saprofítica de *Alternaria brassicicola* e manejo de restos foliares de brócolos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, p. 13-18, 2007.

PERUCH, L. A. M., MICHEREFF, S. J., ARAÚJO, I. B. Levantamento da intensidade da alternariose e podridão negra em cultivos orgânicos de brássicas em Pernambuco e Santa Catarina. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v. 24, p. 464-469, 2006.

REUVENI, M., SHEGLOV, D. Effects of azoxystrobin, difenoconazole, polyoxin B (polar) and trifloxystrobin on germination and growth of *Alternaria alternata* and decay in red delicious apple fruit. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 21, p. 951-955, 2002.

RODRIGUES, V. J. L. B., MICHEREFF, S. J., GOMES, A. M. A., ROCHA JR., O. M., MESQUITA, J. C. P., MENEZES, D. Epidemiologia da alternariose da couve-chinesa em diferentes sistemas e práticas de cultivo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, p. 219-225, 2004a.

RODRIGUES, V. J. L. B., MICHEREFF, S. J., MENEZES, D., AGUIAR FILHO, M. R., SILVA, L. G. C., BIONDI, C. M., 2004b. Epidemiologia comparativa da alternariose em cultivares de brássicas sob cultivo convencional e orgânico. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, p. 226-233, 2004b.

SAHARAN, G. S., MEHTA, N., SANGWAN, M. S. **Diseases of Oilseed Crops**. Indus Publishing: New Delhi. 2005. v. 1, 643 p.

TEWARI, J. P., MITHEN, R. F. Diseases. *In*: GÓMEZ-CAMPO, C. (ed.). **Biology of Brassicae Coenospecies**. Elsevier: Amsterdam, 1999. p.375-411.

TÖFOLI, J. G., DOMINGUES, R. J. Alternarioses em hortaliças: sintomas, etiologia e manejo integrado. **O Biológico**, São Paulo, v. 66, p. 23-33, 2006.

VERMA, P. R., SAHARAN, G. S. Monograph on Alternaria Diseases of Crucifers. Saskatoon Research Centre. **Technical Bulletin**. Agriculture and Agri-food Canada, Saskatoon. 1994. 162 p.

YPEMA, H. L., GOLD, R. E. Kresoxim-methyl: modifications of a naturally occurring compound to produce a new fungicide. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 83, p. 4-19, 1999.

ZAMBOLIM, L., VENÂNCIO, W. S., OLIVEIRA, S. H. F. **Manejo da Resistência de Fungos a Fungicidas**. Universidade Federal de Viçosa: Viçosa, 2007. 168 p.

ZIOGAS, B. N., BALDWIN, B. C., YOUNG, J. A. Alternative Respiration: a biochemical mechanism to azoxystrobin (ICIA 5504) in *Septoria tritici*. **Pesticide Science**, New York, v. 50, p. 28-34. 1997.

Tabela 1. Isolados de *Alternaria brassicicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos de brássicas de Pernambuco (Brasil) utilizados na avaliação de sensibilidade a fungicidas.

Cultivo	Hospedeiro	Isolado
Convencional	Brócoli	CFM-20, CFM-36, CFM-37, CFM-40, CFM-44, CFM-69, CFM-84, CFM-101, CFM-119, CFM-200, CFM-202, CFM-382, CFM-477, CFM-583
	Couve-clor	CFM-8, CFM-52, CFM-63, CFM-73, CFM-251, CFM-255, CFM-259, CFM-306, CFM-315, CFM-355, CFM-389, CFM-441, CFM-506, CFM-571
	Couve-Comum	CFM-35, CFM-95, CFM-110, CFM-111, CFM-120, CFM-133, CFM-140, CFM-224, CFM-365, CFM-374, CFM-386, CFM-457, CFM-576, CFM-586
	Repolho	CFM-102, CFM-104, CFM-302, CFM-308, CFM-312, CFM-317, CFM-319, CFM-368, CFM-435, CFM-439, CFM-449, CFM-509, CFM-581, CFM-582
Orgânico	Brócoli	CFM-15, CFM-32, CFM-71, CFM-90, CFM-91, CFM-151, CFM-158, CFM-223, CFM-243, CFM-271, CFM-353, CFM-363, CFM-420, CFM-473
	Couve-Flor	CFM-11, CFM-67, CFM-273, CFM-335, CFM-339, CFM-343, CFM-351, CFM-358, CFM-414, CFM-415, CFM-428, CFM-463, CFM-465, CFM-470
	Couve-Comum	CFM-1, CFM-64, CFM-68, CFM-70, CFM-72, CFM-97, CFM-109, CFM-212, CFM-216, CFM-352, CFM-364, CFM-464, CFM-471, CFM-475
	Repolho	CFM-2, CFM-65, CFM-66, CFM-108, CFM-338, CFM-356, CFM-357, CFM-429, CFM-430, CFM-431, CFM-432, CFM-466, CFM-467, CFM-468

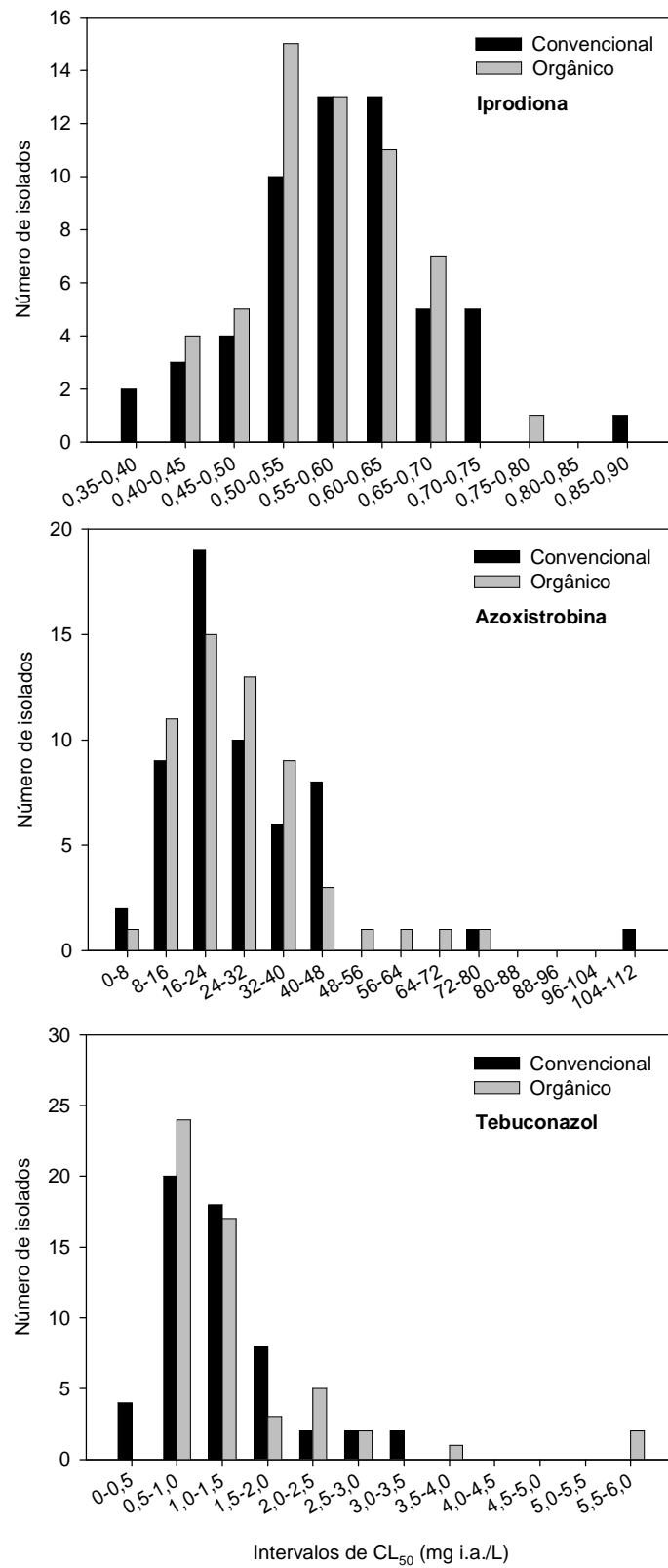


Figura. 1 - Distribuição dos isolados de *Alternaria brassicicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos de brássicas de Pernambuco (Brasil), em intervalos de CL₅₀ (concentração para inibir 50% do crescimento micelial) dos fungicidas iprodiona, azoxistrobina e tebuconazol.

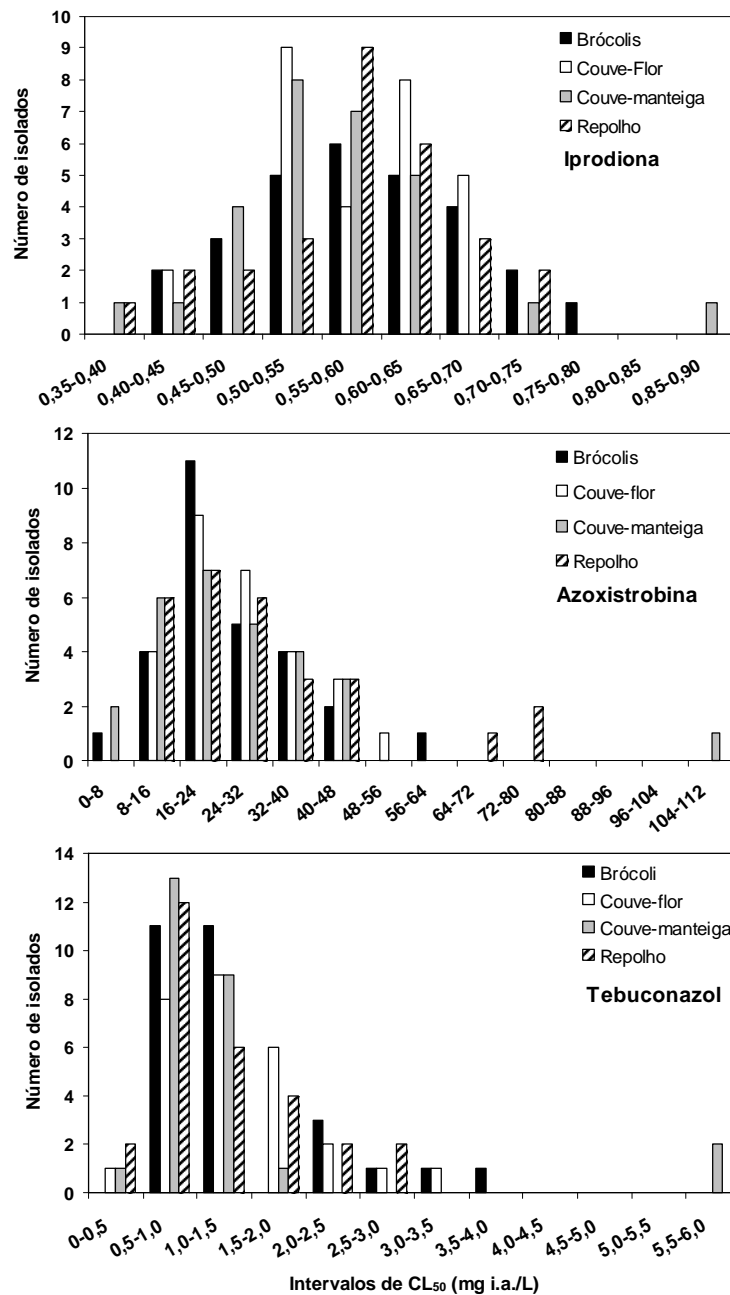


Figura. 2 - Distribuição dos isolados de *Alternaria brassicicola* oriundos de diferentes espécies de brássicas cultivadas em Pernambuco (Brasil), em intervalos de CL₅₀ (concentração para inibir 50% do crescimento micelial) dos fungicidas iprodiona, azoxistrobina e tebuconazol.

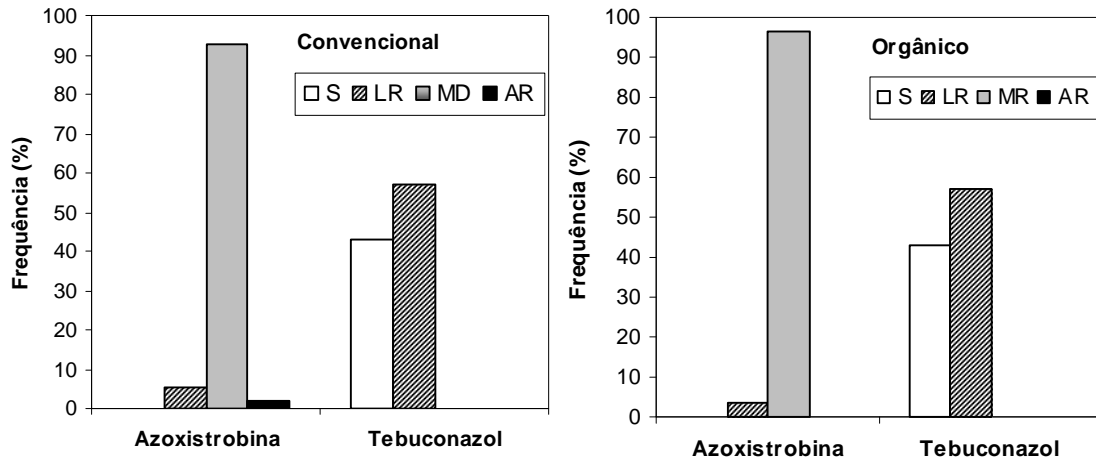


Figura. 3 - Frequência (%) de isolados de *Alternaria brassicicola* oriundos de cultivos convencionais e orgânicos de brássicas de Pernambuco (Brasil) quanto aos níveis de sensibilidade aos fungicidas azoxystrobin e tebuconazol, sendo: S (sensível) = valores de CL_{50} entre 0,1 e 1 mg/L; LR (ligeiramente resistente) = valores de CL_{50} entre >1 e 10 mg/L; MR (medianamente resistente) = valores de CL_{50} entre >10 e 100 mg/L; AR (altamente resistente) = valores de CL_{50} acima de 100 mg/L.