

Resistência do fungo *Venturia inaequalis* ao fungicida dodine

Yoshinori Katsurayama e José Itamar da Silva Boneti

As primeiras pulverizações contra a sarna da macieira foram realizadas há mais de 70 anos, com os fungicidas inorgânicos, ou seja, com a calda bordalesa e com o enxofre (fungicidas de primeira geração). Entretanto, foi somente em meados deste século, com a introdução dos fungicidas protetores orgânicos (de segunda geração), tais como folpet (1949), mancozeb (1950), captan (1953) e dodine (1956), que a doença começou a ser controlada mais eficientemente.

No final da década de 60, foram introduzidos os fungicidas de terceira geração, assim considerados devido apresentarem modo de ação curativa sobre a doença, em contraste aos fungicidas tradicionais, que atuam evitando a ocorrência da mesma. Os fungicidas do grupo dos benzimidazóis (benomyl, tiofanato metílico, tiabendazole etc.) modificaram radicalmente o método de controle da sarna recomendado na época, que era essencialmente protetor. E, no início da década passada, foram desenvolvidos os fungicidas inibidores da biossíntese de ergosterol (IBEs), ou seja, os fungicidas do grupo das piperazinas, triazoles e pirimidinas, entre outros. Atualmente estes fungicidas são muito utilizados no controle da sarna da macieira.

Uma das maiores virtudes dos fungicidas curativos é a sua capacidade de translocação, mais comumente translaminar, o que permite matar o patógeno no interior da folha ou do fruto após o início do processo infeccioso. Em outras palavras, o fungicida entra na planta (ação sistêmica) através das folhas ou frutos e destrói o patógeno, sem causar dano à planta. Já os fungicidas protetores convencionais, que atuam formando uma capa prote-

tora sobre o órgão suscetível da planta, são inespecíficos e, portanto, seriam muito tóxicos se penetrassem na planta.

Se, por um lado, a alta especificidade do fungicida ao fungo pode ser considerada uma virtude, por ser menos tóxico à planta, ao homem e ao ambiente, por outro lado é também um defeito, pois pode resultar facilmente na perda da eficiência devido ao desenvolvimento de resistência, como aconteceu com dodine (1), benzimidazóis (2 e 3) e, mais recentemente, com os fungicidas IBEs.

O problema da resistência ao dodine

Os fungicidas protetores orgânicos, por apresentarem largo espectro de ação sobre o fungo, isto é, atuarem em vários pontos do seu ciclo biológico, dificilmente estarão sujeitos ao problema de resistência.

O dodine, um produto muito usado no controle da sarna da macieira, foge a esta regra porque apresenta alta especificidade em relação a *V. inaequalis*, o que tem resultado no aparecimento de resistência. Este problema foi, pela primeira vez, detectado nos EUA, após dez anos de uso ininterrupto (3) e, mais tarde, foi constatado também na África do Sul (3) e no Canadá (3).

Sabe-se que a resistência a um determinado fungicida ocorre naturalmente, mesmo num pomar onde a população do fungo nunca foi submetida à ação deste fungicida. No caso do dodine, um indivíduo em cada milhão apresenta um certo grau de resistência a este produto (4). A aplicação contínua do dodine apenas seleciona e aumenta a frequência destes indiví-

duos, em detrimento dos indivíduos sensíveis.

Apesar de a resistência ao dodine envolver poucos genes (5) e, portanto, teoricamente ser facilmente quebrada, na prática ela evoluiu lenta e gradativamente, de modo semelhante ao que ocorre com os IBEs.

Na região sul do Brasil, o dodine está sendo usado intensivamente há 20 anos, devido principalmente ao seu efeito supressor da produção de conídios de *V. inaequalis*.

Conseqüentemente, cada vez que ocorrem insucessos no controle da sarna, são levantadas suspeitas sobre a ocorrência da resistência.

Deste modo, foi iniciado, em 1992, um trabalho de monitoramento na região de São Joaquim e Fraiburgo, SC, com o objetivo de comprovar a ocorrência da resistência ao dodine e, em caso positivo, elaborar estratégias para prolongar a vida útil deste fungicida.

Material e métodos

Tolerância in vitro dos isolados de *V. inaequalis* ao dodine

Entre 1992 e 1994 foram coletadas nas regiões de Fraiburgo e São Joaquim, SC, folhas de macieira com lesões de sarna para se obter os isolados do fungo causador da sarna.

A suspensão de conídios, produzidos em meio de cultura, foi depositada em placas de Petri contendo agar-água e dodine nas concentrações de 0; 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0 ppm. Após dois dias a 20°C, determinou-se a porcentagem de germinação em 50 conídios/dose/repetição.

Determinou-se também o crescimento de *V. inaequalis* em BDA contendo dodine nas mesmas concentra-

Fitossanidade

ções acima e mantido a 20°C, durante 28 dias.

Com os índices obtidos calculou-se a Dose Efetiva Mediana (ED₅₀), que é a dose do fungicida necessária para reduzir a germinação dos esporos ou o crescimento do fungo pela metade do observado no meio de cultivo sem o fungicida (dose 0).

Avaliação da eficiência do dodine em casa de vegetação

Macieiras da cultivar Fuji, plantadas em vasos, foram inoculadas com isolados de *V. inaequalis* com diferentes níveis de tolerância ao dodine. Foram utilizados dois isolados tolerantes ao dodine (ED₅₀ > 1,0 ppm) e um sensível (ED₅₀ < 1,0 ppm) coletados em São Joaquim e Fraiburgo, SC. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida a 20°C durante um dia e, então, pulverizadas com os fungicidas.

Resultados e discussão

Germinação de conídios em agar-água mais dodine

Foram encontrados isolados com diferentes graus de sensibilidade ao dodine dentro de um pomar (Tabela 1). Este fato deve-se à variabilidade que ocorre naturalmente na população de *V. inaequalis*. Vários estudos demonstram que, mesmo numa área em que o dodine nunca foi aplicado, encontram-se alguns isolados resistentes entre a maioria sensível. Esta frequência seria em torno de um indivíduo para cada grupo de 1 milhão (4).

Foi encontrada, também, variação na sensibilidade de um pomar para outro da mesma região (Tabelas 1 e 3). Como o desenvolvimento da resistência ao dodine ocorre gradual e continuamente, influenciadas pelo manejo rea-lizado pelo produtor durante vários anos, é natural que se detectem diferenças na resistência entre os pomares.

Houve redução na germinação de conídios já na concentração de 0,12ppm de dodine. Sabe-se que, no campo, a eficiência do dodine não é afetada

Tabela 1 - Germinação (%) dos isolados monospóricos de *Venturia inaequalis* em meio de BDA com o fungicida dodine. São Joaquim, SC, 05/1994

Isolado ^(A)	Germinação (%) relativa ^(B) em dodine (ppm)			
	0,12	0,25	0,5	1,0
DOD 1.1	82	73	82	60
DOD 3.1	100	100	100	93
MAR 2.3	100	100	100	90
MAR 4.1	80	83	81	6
HO 2.1	100	97	75	0
HO 3.1	100	85	88	13
HO 5.1	100	98	100	46
AF 1.1	84	73	37	0
AF 1.2	83	73	56	2
PG 5.1	92	68	37	0
PG 6.1	90	95	64	1
FI 1.2	90	100	64	5
FI 3.1	94	100	33	15
PB 2.2	100	92	82	3
PB 2.3	100	100	86	22
PF 2.3	71	47	30	11
PF 6.2	91	94	82	0
REN 3	100	94	67	18
CON 4	90	-	65	25
CON 5	85	-	75	85
VIN 1	90	-	55	10
VIN 2	85	-	80	15
TAN 1	50	-	50	45
TAN 2	100	-	100	55
SON 1	95	-	80	20
SON 2	95	-	65	25
RE 1	66	-	54	4
RE 2	56	-	38	1

(A) São apresentados somente alguns isolados de cada local. Os isolados com as mesmas iniciais procedem de um mesmo pomar.
(B) Considerou-se a porcentagem de germinação de conídios da testemunha (dose 0) como sendo igual a 100.

Tabela 2 - Germinação de isolados monospóricos de *V. inaequalis* coletados em Santa Catarina. Ciclo 1992/93

ED ₅₀	Número de isolados	Proporção (%)
0 a 0,1 ppm	0	0
0,1 a 0,5 ppm	9	33,3
0,5 a 1,0 ppm	16	59,3
1,0 a 5,0 ppm	2	7,4
Total	27	100,0

pelos isolados com este nível de sensibilidade.

Por outro lado, alguns isolados apresentaram 50% ou mais de germinação dos conídios a 1,0ppm. Alguns estudos mencionam que isolados com este nível de resistência afetam a eficácia do dodine. No caso específico

da série DOD, coletada em São Joaquim, após dez aplicações consecutivas do dodine, obteve-se germinação média de 70% a 1,0ppm. Neste caso, a eficácia do dodine (39g i.a./100 litros) foi inferior à do captan (120g i.a./100 litros).

A germinação média da série MAR,

Fitossanidade

também coletada em São Joaquim, de um pomar com suspeita de resistência, foi de 19% a 1,0 ppm, valor semelhante ao da série HO (13%), coletada de um pomar aparentemente sem problema de resistência. Em outros pomares com controle eficiente da sarna também foram encontrados isolados com alta porcentagem de germinação a 1,0 ppm. Vários trabalhos realizados nos EUA também mostram que nem sempre a presença de indivíduos resistentes está relacionada com a redução da eficiência do produto.

Considerando-se um grupo de 27 isolados (Tabela 2), quase 60% dos isolados apresentaram ED₅₀ entre 0,5 e 1,0 ppm de dodine. Sabe-se que isolados que apresentam alta germinação de conídios na dose de 0,7 ppm ou mais podem causar falha no controle da sarna, quando se usa exclusivamente o dodine.

Mesmo na presença da resistência no pomar, a queda na eficiência do tratamento fitossanitário depende também de outros fatores, tais como a quantidade de inóculo (pressão do inóculo), a proporção de isolados resistentes no pomar, as condições meteorológicas (principalmente da frequência e duração da chuva), a resistência da cultivar à sarna e a tecnologia utilizada na aplicação do fungicida (pulverizador, volume de calda, dose/ha etc.). Deste modo, com base nos dados acima, é difícil afirmar que a severidade da sarna dos pomares estudados é devida exclusivamente ao problema da resistência ao dodine. É necessário, neste caso, um monitoramento mais amplo da população de *V. inaequalis* no pomar, para se determinar a frequência de isolados resistentes.

De um grupo em torno de 50 isolados, coletados em cada um dos três pomares estudados, foi observada menor proporção de isolados resistentes no pomar 2, em que historicamente houve problema severo de sarna (Tabela 3). Neste pomar, no ciclo 1989/90, o dodine fora aplicado doze vezes, entretanto apenas 17,3% dos isolados apresentaram ED₅₀ acima de 1,0ppm. Já nos pomares 1 e 3, localizados próximos ao pomar 2, a proporção de isolados resistentes ficou acima da

Tabela 3 - Germinação em dodine a 1ppm. São Joaquim, SC. Ciclo 1994			
	Pomar 1 (%)	Pomar 2 (%)	Pomar 3 (%)
Germinação nula	67,3	76,9	66,6
0 a 50% de germinação	8,3	8,3	4,2
Germinação acima de 50%	33,3	17,3	29,2
Isolados testados	48	54	48

Nota: Monitoramento realizado na Comunidade de Boava, São Joaquim.

expectativa. Provavelmente a frequência de aplicação do dodine nos últimos cinco anos tenha afetado a proporção de isolados tolerantes nestes pomares.

Crescimento micelial em meio de BDA mais dodine

O crescimento da colônia de *V. inaequalis* em meio de cultura contendo dodine é outro método de avaliação da resistência. Alguns isolados mostraram-se sensíveis a 0,1 ppm, enquanto outros cresceram mesmo a 10,0 ppm, apresentando diferentes graus de tolerância ao dodine. A maioria dos isolados apresentou dose efetiva mediana (ED₅₀) entre 0,5 e 1,0 ppm, muito acima de 0,2 ppm encontrada nas populações selvagens de *V. inaequalis* (Tabela 4).

O valor relativamente alto encontrado neste levantamento se deve, em parte, à procedência e ao momento de coleta dos isolados. A maioria destes foi coletada de pomares com sarna após, no mínimo, duas aplicações consecutivas do dodine. Portanto, estes dados indicam a tendência observada nos pomares com manejo inadequado da sarna. Em grande parte dos pomares do Estado, o dodine, quando usado corretamente, é ainda um fungicida importante no manejo da sarna.

Como medida preventiva, recomenda-se limitar o número de aplicações do dodine, restringindo-se às épocas

mais críticas e não submeter o produto à alta pressão de doença.

O uso do dodine em mistura com um fungicida curativo, com base nos avisos fitossanitários, é também outra medida altamente recomendável.

Ensaio em casa de vegetação

Na primeira bateria de testes foi observada alta eficiência do dodine, principalmente quando as plantas foram inoculadas com o isolado sensível de *V. inaequalis* (Tabela 5). Não foi detectada diferença entre as doses de 39g e 58,5g/100 litros de dodine, ambas dosagens sendo muito eficientes, mesmo com os isolados resistentes.

Na segunda bateria de testes também se observou a tendência de os isolados tolerantes causarem maior grau de severidade em relação ao isolado sensível. Nesta bateria, foi observada a tendência de a dose mais alta do dodine (58,5g/100 litros) ser mais eficiente, mesmo com os isolados resistentes. Esta tendência não foi tão nítida na primeira bateria.

Considerando-se os resultados obtidos nas duas baterias de testes, pode-se dizer que houve uma tendência de os isolados mais tolerantes ao dodine (IR1 e IR2) causarem mais doença nas folhas de macieira. Deste modo, é provável que, em alguns pomares comerciais, isolados com tolerância similar à dos isolados IR1 e IR2 sejam

Tabela 4 - Crescimento das colônias de <i>V. inaequalis</i> (ED ₅₀) em meio de BDA contendo dodine. São Joaquim, SC, 1994										
Isolado ED ₅₀	RE4	CO4	EMP1	RE1	VIN1	CO3	SON4	RE9	CO6	SON2
	1,0	1,3	0,5	0,4	0,8	0,3	2,0	0,9	<0,1	<0,1

Nota: Estão apresentados apenas alguns isolados estudados.

Fitossanidade

Tabela 5 - Eficiência do dodine aplicado antes da inoculação com *V. inaequalis* no controle da sarna da macieira, em casa de vegetação. São Joaquim, 1994

Tratamento	Dosagem (g i.a./100 litros)	Severidade da sarna (%)		
		IR1	IR2	IS
Primeira bateria				
Dodine	39,0	9,5a	2,4a	0a
Dodine	58,5	3,6a	5,9a	1,2a
Dithianon	70,0	3,6a	7,1a	10,7b
Testemunha	-	66,6b	78,6b	83,3c
Segunda bateria				
Dodine	60,0	22,2ab	28,6b	19,0a
Dodine	90,0	16,6a	10,7a	11,9a
Dithianon	100,0	30,9b	30,9b	36,9b
Testemunha	-	66,6c	70,2c	73,8c

Nota: IR1 e IR2 = isolados resistentes e IS = isolado sensível

responsáveis pela redução da eficiência do dodine.

Por outro lado, em pomares onde houve uso racional do dodine, é esperado que a dose atualmente recomendada de 26 a 39g i.a./100 litros resulte em bom nível de controle da sarna. Nestes pomares, a presença da doença, na maioria das vezes, deve estar relacionada com fatores alheios à resistência.

Os três isolados utilizados neste trabalho foram selecionados, ao acaso, com base apenas na sua sensibilidade ao dodine. Sabe-se que os isolados resistentes variam na sua capacidade de se adaptar e competir com os isolados sensíveis. Deste modo, é necessário que mais isolados sejam selecionados e testados para se obter informações epidemiológicas mais abrangentes.

Conclusão e recomendações

- A sensibilidade de *V. inaequalis* ao dodine diferiu de um pomar para outro, provavelmente influenciada pelas condições do ambiente e manejo da sarna empregado.

- O monitoramento mostrou que houve uma mudança na sensibilidade ao dodine. Entretanto, a proporção de indivíduos resistentes no pomar é baixa. Portanto, ainda é possível tomar medidas corretivas para minimizar o problema.

- Em ensaio em casa de vegetação, os isolados mais resistentes causaram mais doença em plantas pulverizadas com o dodine.

- Na maioria dos pomares de Santa Catarina, o dodine ainda é um produto muito eficiente, no controle

da sarna.

- Nestes pomares, o dodine deve ser usado no aparecimento das primeiras manchas de sarna e em número limitado por ano, para reduzir a pressão de seleção.

- Além disso, recomenda-se a mistura de tanque de dodine com um fungicida curativo (IBEs) para também reduzir a pressão de seleção.

Literatura citada

1. SZKOLNIK, M.; GILPATRICK, J.D. Apparent resistance of *Venturia inaequalis* to dodine in New York apple orchards. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, v.53, n.11, p.861-864, 1969.
2. AKUTSU, M.; TANAKA, H. Controle químico da sarna da macieira. Florianópolis: EMPASC, 1977. 9p. (EMPASC. Comunicado Técnico, 2).
3. JONES, A.L.; WALKER, R.J. Tolerance of *Venturia inaequalis* to dodine and benzimidazole fungicides in Michigan. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, v.60, n.1, p.40-44, 1976.
4. MACNEILL, B.H.; SCHOOLEY, J. The development of tolerance to dodine in *Venturia inaequalis*. *Canadian Journal Botany*, Ottawa, v.51, p.379-382, 1973.
5. POLACH, F.J. Genetic control of dodine tolerance in *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, Saint Paul, v.63, p.1.189-1.190, 1973.

Yoshinori Katsurayama, eng. agr., M.Sc., Cart. Prof. n° 54.463-D, CREA-SP, EPAGRI, Estação Experimental de São Joaquim, C.P. 81, Fone (0492) 33-0324, 88600-000, São Joaquim, SC e **José Itamar da Silva Boneti**, eng. agr., M.Sc., Cart. Prof. n° 3.527-D, CREA-SC, EPAGRI, Estação Experimental de São Joaquim, C.P. 81, Fone (0492) 33-0324, 88600-000 - São Joaquim, SC.



PREFEITURA MUNICIPAL DE JOINVILLE
FUNDAÇÃO MUN. "25 DE JULHO"

Centro de Desenvolvimento Agrícola e Serviço da Família Rural

ESTAÇÃO DE PISCICULTURA (Carpa - Curimatã - Pacu - Tilápia)
PRODUÇÃO DE MUDAS FLORESTAIS (Pinus - Eucalipto)

Fone/Fax (0474) 24-1188