

10035
CNPMA
1989
ex. 2
FL-10035a

ISSN 0102-7816



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA
Vinculada ao Ministério da Agricultura - MA
Centro Nacional de Pesquisa de Defesa de Agricultura - CNPDA
Jagariúna, SP

RESISTÊNCIA DE FUNGOS A FUNGICIDAS
DO GRUPO DOS BENZIMIDAZÓIS E DICARBOXIMIDAS-
UMA REVISÃO

1989

Resistência de fungos a
1989 FL-10035a



37467-2

ISSN 0102-7816



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA
Vinculada ao Ministério da Agricultura
Centro Nacional de Pesquisa de Defesa da Agricultura – CNPDA
Jaguariúna, SP

**RESISTÊNCIA DE FUNGOS A FUNGICIDAS
DO GRUPO DOS BENZIMIDAZÓIS E DICARBOXIMIDAS-
UMA REVISÃO**

Raquel Ghini

1989

EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 9

Exemplares desta publicação devem ser solicitados ao:

Centro Nacional de Pesquisa de Defesa da Agricultura
Rodovia SP-340, Campinas-Mogi-Mirim, km 127,5
Caixa Postal 69
13.820 - Jaguariúna - SP

Tiragem: 500 exemplares

Comitê de Publicações

Presidente: Wagner Bettiol

Secretária: Maria Amélia de Toledo Leme

Membros: Antonio Luiz Cerdeira
João Carlos Canuto
Margarida M. Hoepfner Zaroni
Reinaldo Forster

Ghini, Raquel

Resistência de fungos a fungicidas do grupo dos benzimidazóis e dicarboximidas / Raquel Ghini. --
Jaguariúna : EMBRAPA-CNPDA, 1989.

37p.-- (EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 9)

1. Fungos - Resistência a fungicidas. 2. Fungicidas. I. Título. II. Série.

CDD 632.94

Os trabalhos publicados pelo Comitê de Publicações refletem exclusivamente a opinião do(s) autor(es).

SUMÁRIO

1. Resistência de fungos a fungicidas	5
2. Benzimidazóis	7
2.1. Modo de ação e seletividade	8
2.2. Resistência	9
3. Dicarboximidas	15
3.1. Modo de ação	16
3.2. Resistência	17
4. Literatura citada	26

RESISTÊNCIA DE FUNGOS À FUNGICIDAS DO GRUPO DOS BENZIMIDAZÓIS E DICARBOXIMIDAS - UMA REVISÃO

Raquel Ghini¹

1. RESISTÊNCIA DE FUNGOS A FUNGICIDAS

O início da aplicação de fungicidas em larga escala para o controle de doenças está vinculado à descoberta da calda bordalesa por Millardet em 1882, em Bordeaux. Tal mistura, composta por sulfato de cobre e cal hidratada, constituiu o principal fungicida utilizado por mais de 50 anos. Raramente problemas com resistência a este fungicida, em condições de campo, foram relatados (DEKKER & GEORGOPOULOS, 1982). De modo geral, o mesmo ocorreu com os organo-mercuriais, introduzidos por volta de 1914, os ditiocarbamatos, introduzidos na década de 1930, e vários outros fungicidas denominados convencionais, desenvolvidos posteriormente, segundo GEORGOPOULOS & ZARACOVITIS (1967). Todos esses compostos têm em comum a característica de somente fornecer proteção à superfície da planta. Assim, devem ser aplicados preventivamente. Esses fungicidas são inibidores de numerosos processos metabólicos vitais, compartilhados por todos os seres vivos, portanto apresentam amplo espectro de ação. Dessa forma, devem ser insolúveis, não podendo penetrar, nem translocar nos tecidos da planta, pois seriam altamente fitotóxicos (KIMATI, 1987b).

Segundo DEKKER & GEORGOPOULOS (1982), após a Segunda Grande Guerra, iniciou-se o desenvolvimento de fungicidas que penetrassem na planta, erradicando o patógeno após a infecção ou protegendo partes da planta que não entraram em contato direto com o fungicida. A partir do final da década de 1960, segundo EDGINGTON et alii (1980), com a ampla aceitação de benomyl e carboxin,

¹ Eng^o Agr^o, Ph. D., CNPDA/EMBRAPA, Caixa Postal 69 ,
CEP 13820, Jaguariúna - SP

e a seguir de outros fungicidas sistêmicos, o controle químico de doenças de plantas assistiu grandes mudanças. Segundo KIRBY (1972), os fungicidas sistêmicos, em uso na época, caracterizam-se por apresentar fungitoxicidade direta; muito baixa a baixa solubilidade; penetração nos tecidos aéreos e raízes, passando para o xilema; movimento ascendente pela corrente transpiratória, acumulando-se nas margens das folhas; incapacidade de chegar a órgãos que não transpirem e de reexportação para regiões de novos crescimentos; ausente ou reduzida translocação descendente, via floema; e amplo ou estreito espectro de ação.

Analisando as perspectivas dos fungicidas sistêmicos após dez anos de uso, EDINGTON et alii (1980) afirmaram que o número desses produtos aumentou de forma significativa durante esse período, compreendendo aproximadamente um terço do total de fungicidas utilizados. Segundo KIMATI (1987a), essa escalada se deve ao fato de produtos sistêmicos compartilharem características de maior especificidade e fungitoxidez inerente, bem como de penetração e translocação dentro da planta, tornando-os muito mais vantajosos do que os convencionais: maiores efeitos erradicante, protetor, curativo e imunizante; menores dosagens e número de pulverizações; menores problemas de fitotoxidez, de contaminação ambiental e de desequilíbrio biológico; e maior adequação para o uso em programas de manejo integrado.

Entretanto, GEORGOPOULOS (1969) alertou que problemas com resistência de fungos a fungicidas deveriam ser mais frequentes e mais sérios com a utilização dos novos produtos seletivos do que com os convencionais. Segundo TOLEDO (1974), DEKKER (1976) e DELP (1980), tal fato se concretizou com os numerosos relatos de resistência a fungicidas ocorridos desde então.

A seletividade, que permite a um fungicida atuar sistemicamente, aumentando tanto a sua eficiência,

é, ao mesmo tempo, causa de sua vulnerabilidade, segundo KIMATI (1987a). DEKKER (1977) explica que mudanças genéticas que resultam na resistência de um patógeno a fungicidas ocorrem com maior facilidade com compostos que atuam primariamente em um ou poucos passos do metabolismo da célula do fungo do que com fungicidas que interferem em muitos passos do processo metabólico. Assim sendo, DELP (1980) afirma que, até 1970, devido à predominância de fungicidas convencionais ou inespecíficos, os casos de resistência relatados no campo limitavam-se a menos de 10 gêneros de fungos; em contraposição, em 1980, com o intensivo e extensivo uso de fungicidas sistêmicos, esse número subiu para, aproximadamente, 35 gêneros.

2. BENZIMIDAZÓIS

Segundo DAVIDSE (1982), dos fungicidas sistêmicos, os benzimidazóis são os mais conhecidos devido às suas propriedades sistêmicas, eficácia no controle de importantes doenças e também pelo número de casos de resistência a estes produtos.

O primeiro composto desenvolvido, segundo DAVIDSE (1982), foi o thiabendazol, o qual foi introduzido em 1961 como um vermífugo utilizado em medicina humana e veterinária. A seguir, foram introduzidos o benomyl, carbendazim e fuberidazol. Os tiofanatos, introduzidos em 1971, são frequentemente incluídos neste grupo já que, sob condições naturais, são convertidos em compostos classificados como benzimidazóis. Fenbendazol, mebendazol, oxibendazol e parabendazol possuem propriedades anti-helmínticas e são utilizados em medicina veterinária, ao passo que nocodazol, segundo DAVIDSE (1982), foi descrito como sendo ativo contra tumores em mamíferos, incluindo o homem.

O transporte dos benzimidazóis nas plantas se dá via xilema, segundo EDGINGTON (1981), sendo a

absorção pelas raízes um processo passivo. O carbendazim pode entrar no floema, mas é devolvido à corrente transpiratória sem haver transporte descendente significativo, exceto quando altas dosagens são aplicadas. O thiabendazol é o benzimidazol que apresenta movimento mais lento, e carbendazim, o mais rápido.

Segundo KIMATI (1978), o amplo espectro de ação dos fungicidas deste grupo tem um valor muito grande para a Fitopatologia porque abrange gêneros de fungos que ocasionam graves prejuízos em um grande número de importantes culturas, tais como oídios, antracnoses, cercosporioses, sarnas, mofo cinzentos (Botrytis) e bolores (Penicillium).

As investigações de Bollen e Fuchs (1970) (1) citadas por KAARS SIJPESTELJN (1977) revelaram uma notável seletividade de benomyl dentro do grupo dos Ascomicetos. Enquanto muitas espécies estudadas são altamente sensíveis, as pertencentes a Porosporae e Anellosporae provaram ser insensíveis. Os Oomicetos e outros Ficomícetos foram também insensíveis. EDGINGTON et alii (1971) obtiveram resultados semelhantes quanto ao espectro fungitóxico dos benzimidazóis.

2.1. MODO DE AÇÃO E SELETIVIDADE

CLEMONS & SISLER (1969) e Selling et alii (1970) (2), citados por DAVIDSE (1982), provaram que

-
- (1) BOLLEN, G. J. & A. FUCHS. On the specificity of the in vitro and in vivo antifungal activity of benomyl. Netherlands Journal of Plant Pathology 77, 83. 1970.
- (2) SELLING, H. A. ; VONK, J. W. ; KAARS SIJPESTELJN, A. Transformation of the systemic fungicide methyl thiophanate into 2- benzimidazole carbamic acid, methyl ester. Chemistry and Industry:1625, 1970.

benomyl e tiofanato metílico, respectivamente, são transformados em carbendazim e nesta forma eles atuam. Assim sendo, vários estudos têm mostrado que os benzimidazóis compartilham de um mesmo modo de ação, isto é, interferem na mitose dos fungos, agindo principalmente no crescimento micelial (DAVIDSE, 1982) e com pouco efeito na germinação de conídios.

Uma proteína que se liga ao carbendazim foi encontrada em extrato de micélio de Aspergillus nidulans, por DAVIDSE & FLACH (1977), com propriedades bioquímicas características da tubulina (unidade que compõe os microtúbulos do fuso mitótico). Esses autores provaram que o carbendazim se liga à tubulina, no mesmo local de ligação da colchicina, e impede a reunião das tubulinas para formar o fuso mitótico, conseqüentemente impedindo a divisão celular.

O sistema de fuso mitótico está presente em todas as células de eucariotos, mas nem todos são igualmente sensíveis aos benzimidazóis, o que implica em uma seletividade, por exemplo, entre a planta hospedeira e o patógeno. DAVIDSE & FLACH (1977) provaram que a afinidade do benzimidazol com a tubulina é o principal fator que determina a atividade do fungicida nos organismos. Assim, quanto maior a afinidade de ligação do benzimidazol com a tubulina, mais sensível é o organismo ao fungicida. Da mesma forma, uma mutação que reduza a afinidade de ligação da tubulina com o benzimidazol, sem afetar o funcionamento normal da tubulina, dá origem a uma linhagem resistente.

2.2. RESISTÊNCIA

Segundo DAVIDSE (1982), o desenvolvimento de resistência a benomyl e outros benzimidazóis tem sido reportado para uma ampla gama de patógenos, em condições de laboratório ou de campo, tanto na agricultura quanto na medicina veterinária. DELP (1980) afirmou que a resistência de patógenos a benzimidazóis havia sido

encontrada em 16 gêneros de fungos até 1980, sendo o primeiro relato realizado por SCHROEDER & PROVVIDENTI (1969), com oídio do pepino resistente a benomyl.

A resistência de Botrytis cinerea a benomyl, por exemplo, foi primeiramente relatada, em condições de campo, em ciclame, por BOLLEN & SCHOLTEN (1971). A seguir, numerosos relatos foram feitos em diversas culturas, como por exemplo, em crisântemo (WATSON & KOONS, 1973), pepino (IIDA, 1975), alface (MILLER & FLETCHER, 1974), tomate (MILLER & FLETCHER, 1974, e FLETCHER & SCHOLEFIELD, 1976), morango (JARVIS & HARGREAVES, 1973), Leucospermum cordifolium (CHO, 1977), macieira, feijoeiro e videira (PEARSON et alii, 1980), essências florestais (GILLMAN & JAMES, 1980), cebola (PRESLY & MAUDE, 1980b) e no Brasil em morango (CABRINI, 1985), em eucalipto (GHINI & KRUGNER, 1987) e em roseira (MOSCA et al., no prelo). É interessante salientar que PEARSON et alii (1980), estudando linhagens de B. cinerea resistentes a benomyl, isoladas de macieiras, feijoeiros e videiras, provaram que o patógeno resistente em uma dessas culturas era pa togênico às demais, fato que agrava a situação.

Para DELP (1980), os benzimidazóis foram responsáveis pelo início dos graves problemas com o surgimento de resistência na história dos fungicidas. O mesmo autor explica que isto ocorreu não somente porque os benzimidazóis foram extensiva e intensivamente utilizados, mas também porque são inibidores de um sítio específico do metabolismo do patógeno e muitos fungos possuem linhagens resistentes em sua população natural, que não sofreu pressão de seleção do fungicida, como ocorreu com B. cinerea isolado de plantas ornamentais (BOLTON, 1976), com Ceratocystis ulmi (SCHREIBER & TOWNSEND, 1976) e Verticillium malthousei (WUEST et alii, 1974).

Via de regra, as linhagens resistentes a um benzimidazol são resistentes a outros compostos do mesmo grupo, isto é, apresentam resistência cruzada

(MILLER & FLETCHER, 1974; POLACH & MOLIN, 1975; RUPPEL, 1975; DAVIDSE, 1982 e LEROUX & CLERJEAU, 1985). Segundo GEORGOPOULOS (1982), isto deve se ao fato dos benzimidazóis compartilharem de um mesmo modo de ação. Entretanto, TUYL et alii (1974) observaram a ocorrência de mutantes de Aspergillus nidulans, em muito baixa frequência, obtidos em meio de cultura contendo benomyl, que eram sensíveis a thiabendazol, apesar da resistência a benomyl. Observaram também mutantes resistentes a thiabendazol que eram mais sensíveis a benomyl do que a linhagem selvagem.

LEROUX & CLERJEAU (1985) verificaram uma resistência cruzada negativamente correlacionada entre fenilcárbamatos (barban ou chlorbufam) e benzimidazóis em linhagens de B. cinerea isoladas de videiras.

O desenvolvimento de linhagens duplo - resistentes, isto é, apresentando resistência a benzimidazóis e outros fungicidas foi constatada em diversas ocasiões. CHASTAGNER & OGAWA (1979) obtiveram linhagens de B. cinerea resistentes a benomyl e dicloran in vitro; PEPIN & MacPHERSON (1982) isolaram B. cinerea resistente a benomyl e captan em condições de campo; com os dicarboximidas, linhagens duplo - resistentes de B. squamosa foram observadas por PRESLY & MAUDE (1982) in vitro e, com linhagens de B. cinerea, por LEROUX & CLERJEAU (1985), GULLINO & GARIBALDI (1986) e NORTHOVER & MATTEONI (1986), em condições de campo.

Quanto à genética da resistência, segundo GEORGOPOULOS (1982b), o melhor exemplo disponível sobre a ação de um gene que controla a sensibilidade a um fungicida de uso agrícola é o gene que proporciona resistência a benzimidazóis em A. nidulans, devido aos intensos estudos realizados. TUYL (1977) mostrou que mutações no gene ben-A são responsáveis pelo desenvolvimento de linhagens de A. nidulans resistentes a benzimidazóis. O gene ben-A codifica a B-tubulina, uma das sub-unidades da molécula de tubulina. Mutações nesse gene afetam as propriedades eletroforéticas da B-tubulina e, ao mesmo

tempo, a habilidade da proteína se ligar com o carbendazim, a qual é inversamente correlacionada com a resistência ao fungicida.

Outros genes conferindo resistência aos benzimidazóis foram reconhecidos em vários outros fungos, embora suas ações não tenham sido estudadas no nível bioquímico. A análise genética de mutantes de Neurospora crassa resistentes a benomyl, realizada por BORCK & BRAYMER (1974), sugeriu que um único gene dominante é responsável pela resistência. BRASSIER & GIBBS (1975), estudando Ceratocystis ulmi, concluíram que a resistência a carbendazim, provavelmente, era conferida por um único gene. Em pesquisa realizada com Venturia inaequalis, MARTIN (1982) observou que a resistência a benomyl é controlada por um só gene e KATAN et alii (1983) constataram, após diversos cruzamentos entre linhagens, que o nível de resistência a benomyl era controlado por mutações em quatro alelos de um gene de segregação mendeliana, sendo que não foram observados e feitos de genes modificadores ou componentes citoplasmáticos.

Entretanto, segundo DAVIDSE (1982), a existência de outros mecanismos de resistência não pode ser inteiramente descartada. Um decréscimo na permeabilidade da célula a carbendazim foi sugerido por NACHMIAS & BARASH (1976) como mecanismo de resistência a benzimidazóis em Sporobolomyces roseus. LAMBERT & WUEST (1976) sugerem que a resistência de Verticillium malthousei a benomyl está associada à produção de um ácido não identificado que reduziria a atividade do fungicida. Estudando os mecanismos de resistência de B. cinerea a carbendazim, TRIPATHI & SCHLOSSER (1982) verificaram que uma linhagem resistente absorvia 44% menos carbendazim e sua tubulina era capaz de ligar com 73% menos fungicida que a linhagem sensível, sendo a união dos dois fatores responsável pela resistência.

A adaptabilidade das linhagens resistentes a benzimidazóis parece variar largamente, mas a maioria

dos relatos indica que a resistência não está ligada a uma redução da adaptabilidade e se mantém estável em vários patógenos, por longos períodos, mesmo na ausência do fungicida.

Um exemplo de alta adaptabilidade, a nível de campo, ocorreu com Cercospora beticola em beterraba açucareira na Grécia. No início, segundo GEORGOPOULOS & DOVAS (1973), o benomyl apresentou excelentes resultados, controlando a doença e por isso passou a ser usado exclusivamente em diversas regiões da Grécia, durante 1970 e 1972. Entretanto, em 1972 a doença aumentou rapidamente e não foi controlada devido ao surgimento de resistência aos benzimidazóis. DOVAS et alii (1976) concluíram que a adaptabilidade das linhagens resistentes não diferia das sensíveis, visto que sua frequência na população permanecia constante, mesmo na ausência do fungicida.

Estudando o mesmo problema nos Estados Unidos, RUPPEL (1975) concluiu que as linhagens de C. beticola resistentes a benzimidazóis não diferiam das sensíveis quanto ao crescimento e esporulação in vitro ou patogenicidade e esporulação in vivo. Mais tarde, RUPPEL et alii (1980) verificaram que as linhagens resistentes apresentavam um alto grau de persistência na ausência de benomyl, mesmo em campos onde outros fungicidas estavam sendo usados.

Uma alta persistência da linhagem resistente em relação à sensível também foi observada por MILLER & JEVES (1979), que relataram a ocorrência de linhagens de B. cinerea resistentes a benomyl, em tomateiros cultivados comercialmente em estufas, três ou mais anos após o fungicida deixar de ser utilizado. Esses autores enfatizam a persistência das linhagens resistentes comparando seus resultados com os obtidos por FLETCHER & SCHOLEFIELD (1976). Num levantamento realizado em 1977, MILLER & JEVES (1979) constataram que 64,3% dos isolados eram resistentes, enquanto que FLETCHER & SCHOLEFIELD (1976), nas mesmas condições, em 1974,

observaram que a frequência se manteve ao redor de 49,6%.

Resultados semelhantes também foram obtidos no estudo da estabilidade da resistência a benzimidazóis em populações de B. cinerea em videiras na Suíça, realizado por SCHUEPP & KUNG (1981). A frequência das linhagens resistentes decresceu somente 5 pontos percentuais após quatro anos sem utilizar tais fungicidas. Uma alta adaptabilidade da linhagem de B. cinerea resistente a benzimidazóis em videiras também foi relatada por LEROUX & CLERJEAU (1985).

No estudo da competição in vivo entre uma linhagem de V. inaequalis resistente e uma sensível a benomyl, MARTIN (1982) constatou que a linhagem resistente predominou após algumas gerações, sendo este resultado obtido para diversas linhagens testadas e também na confrontação de uma linhagem resistente e uma população sensível (mistura de linhagens sensíveis). Entretanto, a concentração de inóculo total e a relação entre as concentrações das linhagens influenciaram na velocidade de desaparecimento da linhagem menos competitiva, no caso, a sensível.

Todavia, nem sempre a linhagem resistente é tão adaptada quanto a linhagem sensível. JORDAN & RICHMOND (1974) observaram que linhagens de B. cinerea resistentes a benomyl, apresentando diferentes velocidades de crescimento em meio de cultura, diferiam quanto à patogenicidade. Da mesma forma, GEESON (1976) encontrou considerável variação no diâmetro da colônia, esporulação e produção de escleródios de linhagens de B. cinerea resistentes a carbendazim na ausência do fungicida.

SOULIER (1984), estudando a competição in vivo entre uma linhagem de V. inaequalis resistente a benzimidazóis (BAT) e duas linhagens sensíveis (R_2 e 106), através de inoculações sucessivas de misturas de conídios, obteve resultados diferentes para cada uma das linhagens sensíveis. Na competição entre BAT e 106,

houve o desaparecimento da linhagem sensível após duas gerações na planta hospedeira, ao passo que na confrontação de BAT e R₂, a linhagem resistente teve sua frequência reduzida e mantida ao nível de 3%.

3. DICARBOXIMIDAS

O termo dicarboximida tem sido amplamente usado, segundo BEEVER & BYRDE (1982), para os fungicidas vinclozolin, iprodione e procymidone, sendo que o primeiro dicarboximida a ser desenvolvido, dichlozoline, foi retirado do mercado logo após a sua introdução. Entretanto, BAILLY & DUBOIS (1981) também incluem nesse grupo de fungicidas: captan, folpet, captafol e ditailimfos, sendo esta classificação pouco utilizada.

Os dicarboximidas têm sido empregados no controle de doenças causadas por patógenos taxonomicamente relacionados (Sclerotiniaceae), incluindo Sclerotinia, Monilinia e Botrytis. Entre os dicarboximidas, iprodione é recomendado para o controle de patógenos causadores de importantes doenças, tais como o mofo cinzento em morangos, causado por B. cinerea; a podridão parda de frutos, causada por Monilinia; a podridão branca do alho, causada por Sclerotium cepivorum; e Alternaria em cebola e cenoura (KIMATI et alii, 1986).

Segundo EDGINGTON (1981), embora os dicarboximidas não sejam considerados sistêmicos, inclusive pelas indústrias produtoras dos fungicidas, há evidências de que são sistêmicos. Hisada et alii (1977) (1), citados por BEEVER & BYRDE (1982), demonstraram que

(1) HISADA, Y. KATO, T. ; KAWASE, Y. Systemic movement in cucumber plants and control of cucumber gray mold by a new fungicide, S- 7131. Netherlands Journal of Plant Pathology 83 (suppl. 1): 71-78. 1977.

procymidone é translocado em pepino, tanto em movimento acropétalo, quanto basipétalo. Segundo BEEVER & BYRDE (1982), iprodione, relatado inicialmente como não sistêmicos, é translocado em batata.

3.1 MODO DE AÇÃO

Apesar das intensas investigações, conforme BEEVER & BYRDE (1982), o modo de ação dos dicarboximidas permanece indefinido. As semelhanças quanto às características químicas, os efeitos similares em fungos e o modelo de resistência cruzada dos dicarboximidas suportam a proposição de que todos os fungicidas deste grupo compartilham um mesmo modo de ação. Ainda segundo BEEVER & BYRDE (1982), alguns autores erroneamente sugerem que iprodione difere dos outros dicarboximidas, isto porque em solução etanólica ou metanólica, iprodione é transformado em um isômero muito menos ativo (COOKE et alii, 1979) e estas soluções são frequentemente utilizadas em testes biológicos.

FRITZ et alii (1977), estudando o mecanismo de ação de procymidone e vinclozolin em B. cinerea, concluíram que há uma forte inibição no crescimento micelial e germinação de conídios; pouco efeito na respiração; pouco efeito na síntese protéica; pouca influência no metabolismo do esterol, entretanto, com algum aumento na fração dos ácidos graxos livres; e forte redução na taxa de incorporação de uridina radioativamente marcada nos ácidos ribonucleicos.

Na comparação do mecanismo de ação de vinclozolin, procymidone e iprodione em B. cinerea, PAPPAS & FISHER (1979) mostraram que estes têm pouco efeito na germinação de conídios, mas afetam o crescimento micelial, sendo que, em adição à redução no diâmetro da colônia, ocorre um decréscimo visível na quantidade de micélio aéreo. Nenhum composto afetou a respiração, a

permeabilidade das membranas e a síntese proteica e de RNA, exceto iprodione que reduziu a incorporação de timina radioativamente marcada na síntese de DNA. Houve entretanto uma alteração na síntese de lipídios, sendo que vinclozolin e procymidone reduziram a síntese de trigliceratos e iprodione reduziu a síntese do esteroi. A síntese de quitina foi pouco afetada.

Segundo PAPPAS & FISHER (1979), os resultados divergentes quanto ao modo de ação dos dicarboximidas são, provavelmente, devido a diferenças nas técnicas utilizadas, por exemplo, a inibição do crescimento micelial de procymidone é muito influenciada pela densidade de inóculo.

GEORGOPOULOS et alii (1979) relataram que os dicarboximidas aumentam a frequência de recombinação mitótica em A. nidulans, assim sua ação nos cromossomos é a principal razão da fungitoxicidade, atuando de forma semelhante aos fungicidas pertencentes ao grupo dos hidrocarbonetos aromáticos (dicloran e quintozene). Para BEEVER & BYRDE (1982), esta conclusão é prematura, visto que tais efeitos podem ser secundários ou refletem a ação em somente um dos numerosos sítios.

3.2. RESISTÊNCIA

Segundo BEEVER & BYRDE (1982), linhagens resistentes a dicarboximidas têm sido obtidas tanto em condições de campo quanto de laboratório. Todavia, são poucos os exemplos de falha no controle de doenças devido a resistência de patógenos a estes fungicidas. Para POMMER & LORENZ (1982), experimentos em laboratório têm mostrado que fungos do gênero Botrytis se tornam resistentes a crescentes concentrações de dicarboximidas com ou sem o uso de agentes mutagênicos. Entretanto, o rápido desenvolvimento de resistência in vitro não implica necessariamente em um rápido surgimento de resistência em condições de campo. Tem-se observado que

a resistência aos dicarboximidas não ocorre tão rapidamente em condições naturais, como ocorre nos laboratórios.

Com o objetivo de avaliar a possibilidade de ocorrência de resistência a dicarboximidas de B. cinerea isolado de videiras, LEROUX et alii (1977) selecionaram in vitro linhagens resistentes a iprodione (30 ppm), vinclozolin (30 ppm) e dicloran (100 ppm) a partir de linhagens sensíveis e resistentes a benzimidazóis, com ou sem exposição à luz ultravioleta. Os resultados mostraram que as linhagens resistentes aos dicarboximidas podem ser tão vigorosas e patogênicas quanto as sensíveis. A frequência de obtenção de linhagens resistentes a dicloran, vinclozolin e iprodione, a partir da sensível a benomyl, foi de 2 a $5 \cdot 10^{-7}$ e 30 a $140 \cdot 10^{-7}$, sem e com exposição à luz ultravioleta, respectivamente. Com a linhagem resistente a benomyl, a frequência foi inferior a 10^{-7} .

Ainda em condições in vitro, CHASTAGNER & VASSEY (1979) obtiveram linhagens de Botrytis tulipae resistentes a iprodione e vinclozolin, após a transferência de conídios para meio de cultura de BDA contendo 50 ppm dos fungicidas, nas frequências de $1,8 \cdot 10^{-6}$ e $4,0 \cdot 10^{-5}$, respectivamente. A taxa de crescimento da linhagem resistente foi aproximadamente a metade da sensível em meio de cultura de BDA sem fungicida. As linhagens resistentes esporularam, produziram escleródios e foram tão patogênicas quanto as sensíveis.

Apesar de não terem sido relatados casos de resistência de Botrytis squamosa a dicarboximidas em culturas de cebola, PRESLY & MAUDE (1982) estudaram a possibilidade de surgimento do problema a partir de linhagens resistentes e sensíveis a benomyl. Foram obtidas, in vitro, linhagens capazes de crescer em meio de cultura contendo 4, 20, 100, 500 e 2500 ppm de iprodione. Estas linhagens apresentaram menor crescimento micelial na ausência do fungicida, menor capacidade de esporulação e foram menos patogênicas que as linhagens

sensíveis. Entretanto, a resistência não foi perdida após diversas transferências na ausência do fungicida.

A possibilidade de desenvolvimento de resistência a dicarboximidás também foi estudada em linhagens que adquiriram resistência em experimentos realizados com substratos naturais. DENNIS & DAVIS (1979) isolaram linhagens de B. cinerea resistentes a iprodione e vinclozolin em algumas lesões com lento desenvolvimento, em morangos utilizados num experimento cuja finalidade era avaliar a eficiência dos dois fungicidas em pré e pós-colheita, durante dois anos. A concentração que reduzia o crescimento micelial do isolado resistente em 50% variou de 160 a 480 ppm para iprodione e 150 a 650 ppm para vinclozolin, sendo que todos os isolados resistentes eram capazes de crescer em meio de BDA contendo 10000 ppm de iprodione ou 1000 ppm de vinclozolin. Baixas concentrações dos fungicidas estimulavam o crescimento das linhagens resistentes. Transferências sucessivas em meio de cultura sem os fungicidas ocasionaram perda da resistência. Os autores concluíram que a eficiência destes produtos no controle da doença nos experimentos realizados poderia ser devido a baixa frequência das linhagens resistentes ou à instabilidade da resistência na ausência dos fungicidas ou pela menor patogenicidade das linhagens resistentes.

Um isolado de B. cinerea resistente a dicarboximidás foi obtido por PAPPAS et alii (1979), em morangos inoculados com um isolado resistente a benomyl e tratados com iprodione. O isolado resistente a dicarboximidás manteve a resistência a benomyl, além de apresentar resistência a quintozene e dicloran, entretanto, permaneceu sensível a captan, thiram, chlorothalonil, dichlofluanid, triadimefon, imazalil e prochloraz. Testes em morangos destacados mostraram que a linhagem resistente a iprodione era tão patogênica quanto a sensível. Não foi observada diferença na quantidade de fungicida absorvido pelas linhagens sensíveis e resistentes. Na ausência do fungicida, também não foi observada dife

rença no crescimento micelial e germinação de conídios, entretanto, o crescimento micelial do isolado sensível foi completamente inibido com 2 ppm de iprodione e a germinação de conídios foi reduzida 65% com 20 ppm. Com esses resultados, PAPPAS et alii (1979) concluíram que a partir de isolados resistentes a benomyl constatados em alta frequência por outros autores em condições de campo, é possível o surgimento de linhagens apresentando dupla-resistência a benzimidazóis e dicarboximidas.

Para POMMER & LORENZ (1982), apesar de não terem sido relatados sérios prejuízos com o surgimento de resistência aos dicarboximidas em condições de campo, uma situação diferente parece estar ocorrendo em culturas protegidas por estufas. HARTILL et alii (1983) explicam que a barreira física da estufa dificulta a entrada de conídios, portanto a competição entre as linhagens não é tão intensa quanto fora da estufa. Assim, uma vez que uma população resistente se desenvolve em uma estufa, ela pode ser mais estável que populações similares em condições de campo.

PANAGIOTAKU & MALATHRAKIS (1981) e KATAN (1982a) realizaram levantamentos sobre a ocorrência de B. cinerea, causador do mofo cinzento em diversas plantações comerciais em estufas, resistentes a dicarboximidas na Grécia e em Israel, respectivamente. Ambos os levantamentos constataram a presença de linhagens resistentes reduzindo a eficácia do fungicida, mas foram testados baixos níveis de resistência (2,5 ppm e 5 ppm, respectivamente).

KATAN (1982b) verificou que os conídios de B. cinerea resistentes a iprodione e vinclozolin, isolados de pepino, tomate, morango e berinjela cultivados em estufas, germinavam normalmente em meio de cultura de BDA contendo 100 ppm de vinclozolin. De modo geral, as linhagens resistentes apresentavam uma taxa de crescimento linear 25 a 30% menor do que as sensíveis em meio de cultura de BDA. As concentrações que reduziram a taxa de crescimento linear das linhagens resistentes em 50% va -

riaram de 1,0 a 4,2 ppm para vinclozolin, iprodione e procymidone.

Na Nova Zelândia, onde os dicarboximidas eram amplamente utilizados desde 1978, HARTILL et alii (1983) constataram que aplicações frequentes de vinclozolin e procymidone falharam no controle de B. cinerea em folhas e frutos de tomate e pepino cultivados comercialmente em estufas, em 1980. Testes de laboratório comprovaram que os isolados cresciam em meio de cultura contendo dichlozolate, iprodione, procymidone, vinclozolin, dicloran, quintozene e benzimidazóis.

No mesmo país, BEEVER & BRIEN (1983) realizaram um levantamento da resistência de B. cinerea a dicarboximidas em diferentes culturas. Em plantações de videira, kiwi, morangos, e "boysenberry", linhagens resistentes foram obtidas em somente duas das 18 propriedades examinadas, uma em videira e outra em morango, sendo que em nenhum caso, aparentemente, houve perda de controle da doença. Em plantios comerciais de tomate, feijão-vagem e pepino, em estufas, linhagens resistentes a dicarboximidas foram isoladas nas sete propriedades visitadas, com alguns casos de fracasso no controle da doença devido a resistência ao fungicida. Entretanto, o grau de resistência era baixo (dose necessária para inibir 50% do crescimento radial menor que 5 ppm). Os autores observaram uma correlação positiva entre a frequência de uso de dicarboximidas e a ocorrência de resistência, embora em plantações fora de estufas não tivessem sido verificados casos de resistência apesar do intenso uso dos fungicidas.

Para estudar o desenvolvimento de linhagens de B. cinerea resistentes a dicarboximidas em videiras na França, LEROUX & CLERJEAU (1985) dividiram os vinhedos em três grupos, sendo o primeiro localizado na região de Champagne; o segundo em Alsace, Burgundy e Lovre Valley e o terceiro, no sul da França. As plantações de videiras do primeiro grupo receberam pelo menos quatro tratamentos com dicarboximidas por ano, entre

1977 e 1982. Entretanto, a partir de 1980 estes fungicidas apresentaram-se menos efetivos, sendo que em 1982, o mofo cinzento não foi controlado devido ao desenvolvimento de resistência. No segundo grupo, LEROUX & CLERJEAU (1985) incluíram vinhedos que receberam dois tratamentos à base de dicarboximidas por ano, a partir de 1977. Neste grupo, os resultados foram contraditórios, sendo que o tratamento foi eficiente em alguns casos e não em outros. No terceiro grupo, as plantações de videiras não estavam afetadas por linhagens resistentes, sendo que elas não receberam mais do que uma aplicação anual de dicarboximidas. Com estes resultados, os autores sugerem estratégias diferentes para cada região da França, visando reduzir ou prevenir o problema de resistência.

Em um levantamento semelhante sobre a ocorrência de linhagens resistentes a dicarboximidas em vinhedos de Ontario (Canadá), NORTHOVER & MATTEONI (1986) detectaram a presença de linhagens de B. cinerea com baixo nível de resistência (2 - 4 ppm) a iprodione em plantações que receberam dez ou mais aplicações desse fungicida ou vinclozolin, durante quatro anos. Baixo nível de resistência a iprodione também foi constatado em culturas comerciais em estufas, após o uso de iprodione por cinco anos, havendo uma correlação positiva significativa entre a frequência de uso do fungicida e a presença de linhagens resistentes.

Na Itália, em um programa de monitoramento de resistência a fungicidas em videiras, iniciado em 1981, GULLINO & GARIBALDI (1986) constataram a presença de linhagens de B. cinerea resistentes a dicarboximidas em 21 a 56% dos campos monitorados. Entretanto, a incidência era baixa em cada campo. A resistência a dicarboximidas foi monitorada utilizando duas concentrações de vinclozolin (3 e 30 ppm) para selecionar linhagens com baixo e alto nível de resistência. Os autores concluíram que os dicarboximidas continuam sendo efetivos em condições de campo, entretanto, frente aos problemas

com resistência a esses fungicidas observados em outras culturas ou outros países e o baixo, mas constante, aumento na incidência de resistência, foi sugerido um contínuo monitoramento da população do patógeno.

Com a finalidade de estudar a adaptabilidade de linhagens de B. cinerea resistentes a dicarboximidas, DAVIS & DENNIS (1981a) analisaram isolados obtidos em condições de campo e de laboratório. Foram consideradas resistentes as linhagens que crescessem em meio de cultura contendo 50 ppm de iprodione ou vinclozolin. Seis dos oito isolados de moranguinho mantiveram a resistência aos dicarboximidas durante 40 sub-cultivos na ausência do fungicida, durante 6 meses, sendo portanto considerada uma resistência estável. Entretanto, segundo os autores, as linhagens de B. cinerea resistentes a dicarboximidas pareciam ser de pouca importância prática naquela ocasião, visto apresentarem ocorrência esporádica. A reduzida frequência de linhagens resistentes é explicada por DAVIS & DENNIS (1981a) devido à menor adaptabilidade, especialmente na ausência do fungicida, demonstrada pela reduzida taxa de crescimento e capacidade de esporulação em relação à linhagem sensível.

Complementando o estudo anterior, DAVIS & DENNIS (1981b) demonstraram a menor sobrevivência das linhagens resistentes a dicarboximidas, além de menor capacidade de dispersão. Entretanto, a habilidade de infectar morangos destacados era igual para as linhagens sensíveis e resistentes.

Resultados semelhantes foram obtidos por HISADA et alii (1981) no estudo da adaptabilidade de linhagens de B. cinerea resistentes a procymidone. A menor capacidade de esporulação, sobrevivência e patogenicidade eram as características das linhagens resistentes responsáveis pelo não surgimento de problemas com resistência em condições de campo.

Conídios de linhagens de B. cinerea sensíveis

e resistentes a dicarboximidas foram misturados (50:50; 10:90) por GULLINO & GARIBALDI (1981) e a competitividade de cada linhagem foi avaliada in vitro e in vivo (videiras e roseiras), determinando-se a cada geração a porcentagem de conídios resistentes e sensíveis. Em ambos os casos, foi verificada uma redução sensível na frequência da linhagem resistente, indicando sua menor adaptabilidade.

BEEVER & BRIEN (1983) observaram que as linhagens de B. cinerea resistentes a dicarboximidas apresentavam alta sensibilidade à pressão osmótica, comprovada pelo menor crescimento em meio de cultura com NaCl, em relação à linhagem sensível. Esta característica poderia contribuir para uma menor adaptabilidade, representada por uma reduzida patogenicidade em frutos maduros, onde acúmulo de açúcares solúveis contribuiria para uma alta pressão osmótica. Resultados semelhantes foram obtidos por LEROUX & CLERJEAU (1985), que observaram resistência cruzada negativamente correlacionada entre os dicarboximidas e alguns sais minerais (NaCl, KCl , CaCl₂), açúcares (glicose, lactose, sacarose) e álcoois (manitol e sorbitol).

No Brasil, GHINI (1987) isolou de plantações comerciais de cebola linhagens de Botrytis squamosa resistentes a benomyl, mas sensíveis a iprodione. Em condições de laboratório, foram obtidas linhagens iprodione-resistentes e duplo-resistentes. As linhagens resistentes a benomyl, a iprodione e a iprodione+benomyl não tiveram alteradas suas sensibilidades ao fungicida propiconazol, porém houve uma tendência geral de se mostrarem mais sensíveis ao captan, captafol e mancozeb do que a linhagem sensível. As linhagens resistentes a iprodione foram também resistentes a procymidone e dicloran. A adaptabilidade foi estudada através do crescimento micelial, produção de conídios, patogenicidade e competição in vitro e in vivo das linhagens sensíveis e resistentes a benomyl. As linhagens de B. squamosa resistentes a benomyl podem ser tão adaptadas quanto as

sensíveis, ao passo que as resistentes a iprodione apresentaram-se menos adaptadas.

Também no Brasil, FANCELLI & KIMATI (1988a) observaram a ocorrência de linhagens de Alternaria dauci, isoladas de folhas de cenoura, resistentes a iprodione, apresentando crescimento até a concentração de 1000 ppm do fungicida incorporado ao meio de cultura, sendo que as sensíveis cresceram até 1 ppm. Não houve diferença significativa quanto à patogenicidade da linhagem sensível e da resistente (FANCELLI & KIMATI , 1988b), mas as linhagens resistentes mostraram uma menor capacidade de esporulação (FANCELLI & KIMATI , 1988c).

Os mecanismos pelos quais os fungos se tornam resistentes aos fungicidas, segundo BEEVER & BYRDE (1982), são muitos, sendo que em alguns casos podem envolver o sítio de ação do produto, mas em outros podem não estar relacionados. Quanto aos dicarboximidas, pouco se sabe sobre o seu modo de ação e também do mecanismo de resistência.

Vários trabalhos provam que há resistência cruzada entre os dicarboximidas (FRITZ et alii, 1977 ; CHASTAGNER & VASSEY, 1979; PRESLY & MAUDE, 1982 ; HARTILL et alii, 1983; LEROUX & CLERJEAU, 1985) e entre os dicarboximidas e o grupo dos hidrocarbonetos aromáticos (FRITZ et alii, 1977; LEROUX et alii, 1977 ; GEORGOPOULOS et alii, 1979; PAPPAS et alii, 1979 ; PRESLY & MAUDE, 1982; KATAN, 1982b; HARTILL et alii , 1983; LITTLE & RAHE, 1984).

Várias características das linhagens resistentes a dicarboximidas têm sido examinadas, segundo BEEVER & BYRDE (1982), na esperança de que elas possam revelar o mecanismo de resistência e os fatores que alteram sua adaptabilidade. Todavia, esses autores alegam que há muito pouca informação para outras espécies além de B. cinerea, cuja interpretação dos resultados é dificultada devido à sua grande variabilidade, como

também ocorre com outras espécies deste gênero (BERQUIST & LORBEER, 1973). A ocorrência de heterocariose e a presença de vários núcleos por conídio (MORGAN, 1971) fazem com que as características apresentadas pela linhagem resistente possam ser um reflexo dessa variabilidade, mais do que uma consequência da presença de um gene particular de resistência.

Embora não tenham havido perdas associadas com o desenvolvimento de resistência a dicarboximidas, BEEVER & BRIEN (1983) afirmam que há evidências de que a presença de linhagens resistentes pode levar à deterioração da eficácia do fungicida e, sob condições de alta pressão de doença, não controle do patógeno. Além disso, a longo prazo, com a exposição de linhagens com baixo nível de resistência à seleção do fungicida, pode ocorrer aumento da adaptabilidade e do grau de resistência.

4. LITERATURA CITADA

BAILLY, R. & DUBOIS, G. Index phytosanitaire. 17. ed , Paris, ACTA, 1981. 479 p.

BEEVER, R. E. & BRIEN, H. M. R. A survey of resistance to the dicarboximide fungicides in Botrytis cinerea . New Zealand Journal of Agricultural Research , Wellington, 26: 391-400, 1983.

BEEVER, R. E. & BYRDE, R. J. W. Resistance to the dicarboximide fungicides. In: DEKKER, J. & GEORGOPOULOS, S. G., ed. Fungicide resistance in crop protection. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. p. 101-17.

- BERQUIST, R. R. & LORBEER, J. W. Genetics of variation in Botrytis squamosa. Mycologia, New York, 63:36-47, 1973.
- BOLLEN, G. J. & SCHOLTEN, G. Acquired resistance to benomyl and some other systemic fungicides in a strain of Botrytis cinerea in cyclamen. Netherlands Journal of Plant Pathology, Wageningen, 77: 83-90 , 1971.
- BOLTON, A. T. Fungicide resistance in Botrytis cinerea, the result of selective pressure on resistant strains already present in nature. Canadian Journal of Plant Science, Ireland, 56: 861-4, out. 1976.
- BORCK, K. & BRAYMER, H. D. The genetic analysis of resistance to benomyl in Neurospora crassa. Journal of General Microbiology, London, 85:51-6, 1974.
- BRASIER, C. M. & GIBBS, J. N. MBC tolerance in aggressive and non-aggressive isolates of Ceratocystis ulmi. Annals of Applied Biology , Wellesbourne , 80: 231-5, 1975.
- CABRINI, H. M. Ocorrência de isolados de Botrytis cinerea Pers. ex. Fr. resistentes a benomyl em morangos (Fragaria spp.) no Estado de São Paulo . Piracicaba, ESALQ - USP, 1985. 66p. (Dissertação - Mestrado)
- CHASTAGNER, G. A. & OGAWA, J. M. DCNA-benomyl multiple tolerance in strains of Botrytis cinerea . Phytopathology, St. Paul, 69 (7) :699-702, 1979.
- CHASTAGNER, G. A. & VASSEY, W. E. Tolerance of Botrytis tulipae to glycophene and vinclozolin. Phytopathology, St. Paul, 69 (8) : 914, 1979.

- CHO, J. J. Shoot and flower blight of Leucospermum cordifolium incited by a benomyl - tolerant strain of Botrytis cinerea. Phytopathology, St. Paul, 67 : 124-7, jan. 1977.
- CLEMONS, G. P. & SISLER, H. D. Formation of a fungitoxic derivative from Benlate. Phytopathology, St. Paul, 59: 705; may 1969.
- COOKE, K; LOEFFLER, R. S. T.; PAPPAS, A. C. The structural rearrangement of iprodione in ethanolic solution. Pesticide Science, Oxford, 10:393-8, 1979.
- DAVIDSE, L. C. Benzimidazole compounds: selectivity and resistance. In: DEKKER, J. & GEORGOPOULOS, S. G. , ed. Fungicide resistance in crop protection. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. p. 60-70.
- DAVIDSE, L. C. & FLACH, W. Differential binding of methyl benzimidazol -2- yl carbamate to fungal tubulin as a mechanism of resistance to this antimitotic agent in mutant strains of Aspergillus nidulans. The Journal of Cell Biology, New York , 72: 174-93, 1977.
- DAVIS, R. P. & DENNIS, C. Properties of dicarboximide-resistant strains of Botrytis cinerea. Pesticide Science, Oxford, 12: 521-35, 1981a.
- DAVIS, R. P. & DENNIS, C. Studies on the survival and infective ability of dicarboximide - resistant strains of Botrytis cinerea. Annals of Applied Biology, Wellesbourne 98: 395-402, 1981b.
- DEKKER, J. Acquired resistance to fungicides. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, 14:405-28 , 1976.

- DEKKER, J. Resistance. In: MARSH, R. W. Systemic Fungicides. 2. ed. London, Butler & Tanner, 1977 . cap. 9, p. 176-97.
- DEKKER, J. & GEORGOPOULOS, S. G. Fungicide resistance in crop protection. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982 . 265p.
- DELP, C. J. Coping with resistance to plant disease control agents. Plant Disease, St. Paul, 64 (7) : 652-7, 1980.
- DENNIS, C. & DAVIS, R. P. Tolerance of Botrytis cinerea to iprodione and vinclozolin. Plant Pathology, Oxford, 28: 131-3, 1979.
- DOVAS, C.; SKYLAKAKIS, G; GEORGOPOULOS, S. G. The adaptability of the benomyl-resistant population of Cercospora beticola in Northern Greece. Phytopathology; St. Paul, 66: 1452-6, dez. 1976.
- EDGINGTON, L. V. Structural requirements of systemic fungicides. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, 19: 107-24, 1981.
- EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. Phytopathology, St. Paul, 61: 42-4, jan. 1971.
- EDGINGTON, L. V.; MARTIN, R. A.; BRUIN, G. C; PARSONS, I.M. Systemic fungicides: a perspective after 10 years. Plant Disease, St. Paul, 64 (1): 19-23, 1980 .
- FANCELLI, M. I. & KIMATI, H. Ocorrência de linhagens de Alternaria dauci resistentes ao fungicida iprodione no Estado de São Paulo. Summa Phytopathologica, Jaquariúna, 14 (1/2): 51, 1988a .

- FANCELLI, M. I. & KIMATI, H. Patogenicidade de linha - gens resistente e sensível ao iprodione de Alternaria dauci em diferentes variedades de cenoura. Summa Phytopathologica, Jaguariúna, 14 (1/2): 52, 1988b .
- FANCELLI, M. I. & KIMATI, H. Características dos isolados de Alternaria dauci resistentes ao fungicida iprodione. Summa Phytopathologica, Jaguariúna, 14 (1/2): 52, 1988c.
- FLETCHER, J. T. & SCHOLEFIELD, S. M. Benomyl tolerance in isolates of Botrytis cinerea from tomato plants. Annals of Applied Biology, Wellesbourne , 82: 529 - 36, 1976.
- FRITZ, R; LEROUX, P; GREDT, M. Mécanisme de l' action fongitoxique de la promidione (26019 RP ou glycofène), de la vinchlozoline et du dicloran sur Botrytis cinerea Pers. Phytopathologische Zeitschrift, Berlin, 90: 152-63, 1977.
- GEESON, J. D. Comparative studies of methyl - benzimidazol -2- yl- carbamate-tolerant and sensitive isolates of Botrytis cinerea and other fungi. Transactions British Mycological Society , London, 66 (1): 123-9, 1976.
- GEORGOPOULOS, S. G. Cross-resistance. In: DEKKER, J. & GEORGOPOULOS, S. G., ed. Fungicide resistance in crop protection. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982a . p. 53-9.
- GEORGOPOULOS, S. G. Genetical and biochemical background of fungicide resistance. In: DEKKER, J. & GEORGOPOULOS, S. G., ed. Fungicide resistance in crop protection. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982b . p. 46-52.

- GEORGOPOULOS, S. G. The problem of fungicide resistance. Bioscience, Arlington, 19 (11): 971-3, nov. 1969.
- GEORGOPOULOS, S. G. & DOVAS, C. A serious outbreak of strains of Cercospora beticola resistant to benzimidazole fungicides in Northern Greece. Plant Disease Reporter, Washington, 57 (4): 321-4, abr. 1973.
- GEORGOPOULOS, S. G. & ZARACOVITIS, C. Tolerance of fungi to organic fungicides. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, 5: 109-30, 1967.
- GEORGOPOULOS, S. G.; SARRIS, M.; ZIOGAS, B. N. Mitotic instability in Aspergillus nidulans caused by the fungicides iprodione, procymidone and vinclozolin. Pesticide Science, Oxford, 10: 389-92, 1979.
- GHINI, R. Ocorrência e adaptabilidade de linhagens de Botrytis squamosa resistentes a fungicidas do grupo dos benzimidazóis e dicarboximidas. Piracicaba, ESALQ/USP, 1987. (Tese - Doutorado) 114 p.
- GHINI, R. & KRUGNER, T.L. Ocorrência de Botrytis cinerea resistente a benomyl em viveiro de Eucalyptus viminalis, em Três Barras - SC. Summa Phytopathologica. Jaguariúna, 13 (1/2): 36, 1987.
- GILLMAN, L. S. & JAMES, R. L. Fungicidal tolerance of Botrytis, within Colorado greenhouses. Tree Planters Notes, Washington, 31 (1): 25-8, 1980.
- GULLINO, M. L. & GARIBALDI, A. Competition in vitro and in vivo between strains of Botrytis cinerea Pers sensitive and resistant to dicarboximides. Netherlands Journal of Plant Pathology, Wageningen, 87: 243, 1981.

- GULLINO, M. L. & GARIBALDI, A. Monitoring the spread of dicarboximide and benzimidazole - resistant strains of Botrytis cinerea in italian vineyards. In : INTERNATIONAL WORKSHOP ON EPIDEMIOLOGY OF PLANT DISEASES. 5., Jerusalém, 1986. Summaries of Contributions.
- HARTILL, W. F. T.; TOMPKINS, G. R.; KLEINSMAN, P. J. Development in New Zealand of resistance to dicarboximide fungicides in Botrytis cinerea, to acylalanines in Phytophthora infestans, and to quazatine in Penicillium italicum. New Zealand Journal of Agricultural Research, Wellington, 26 : 261-9, 1983.
- HISADA, Y.; TAKAKI, H.; KATO, T.; OZAKI, T.; KAWASE, Y. Fitness of procymidone - resistant Botrytis cinerea strains developed in vitro. Netherlands Journal of Plant Pathology , Wageningen, 87:243; 1981.
- IIDA, W. On the tolerance of plant pathogenic fungi and bacteria to fungicides in Japan. Japan Pesticide Information, Tokyo, (23): 13-6, 1975.
- JARVIS, W. R. & HARGREAVES, A. J. Tolerance to benomyl in Botrytis cinerea and Penicillium corymbiferum . Plant Pathology, Oxford 22: 139-41, 1973.
- JORDAN, V. W. L. & RICHMOND, D. V. The effects of benomyl on sensitive and tolerant isolates of Botrytis cinerea infecting strawberries. Plant Pathology, Oxford, 23: 81-3, 1974.
- KAARS SIJPESTEIJN, A. Effects on fungal pathogens. In : MARSH, R. W., ed. Systemic fungicides. 2. ed London , Butler & Tanner, 1977. cap. 7, p. 131-59.

- KATAN, T. Persistence of dicarboximide - fungicide resistance in populations of Botrytis cinerea in a warm, dry temperate agroclimate. Phytoparasitica, Dagan, 10 (3): 209-11, 1982a.
- KATAN, T. Resistance to 3,5 - dichlorophenyl - N . cyclic imide ('dicarboximide') fungicides in the grey mould pathogen Botrytis cinerea on protected crops. Plant Pathology, Oxford, 31:133-41, 1982b.
- KATAN, T. ; SHABI, E. ; GILPATRICK, J. D. Genetics of resistance to benomyl in Venturia inaequalis isolates from Israel and New York. Phytopathology, St. Paul, 73 (4):600 - 3, 1983.
- KIMATI, H. Fungicidas. In: GALLI, F, coord. Manual de fitopatologia. 2. ed. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1978. v 1, cap. 18, p. 325-73.
- KIMATI, H. Resistência de fitopatógenos a substâncias químicas usadas no controle de doenças de plantas . Summa Phytopathologica, Jaguariúna, 13 (1/2): 72-4 , 1987a.
- KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas e a importância do monitoramento. Agrotécnica, São Paulo, (1): 5-7, 1987b.
- KIMATI, H.; SOAVE, J.; ESKES, A.B.; KUROZAWA, C. ; BRIGNANI NETO, F.; FERNANDES, N. G Guia de fungicidas agrícolas. Piracicaba, Livrocere, 1986. 281 p.
- KIRBY, A.H.M. Progress towards systemic fungicides PANS, Hampshire, 18(1): 1-33, 1972.
- LAMBERT, D. H. & WUEST, P. J. Acid production, a possible basis for benomyl tolerance in Verticillium malthousei. Phytopathology, St. Paul, 66:1144-7, set. 1976

- LEROUX, P. ; FRITZ, R.; GREDT, M. Études en laboratoire de souches de Botrytis cinerea Pers, résistantes à la dichlozoline, au dicloran, au quintozone, à la vinchlozoline et au 26019RP (ou glycofène). Phytopathologische Zeitschrift, Berlin, 89: 347-58 , 1977.
- LITTLE, E. R. & RAHE, J. E. Specific tolerance of Sclerotium cepivorum to dicarboximide fungicides . Plant Disease, St. Paul, 68 (5): 371-4, mai. 1984 .
- MARTIN, D. Contribution a l'étude du pouvoir pathogène et de la résistance au benomyl de Venturia inaequalis (CKE.) Wint: compétition entre biotypes et hérédité des caracteres. Paris, Centre d'Orsay / Université de Paris - Sud, 1982. 115 p. (Tese - Douorado).
- MILLER, M. W. & FLETCHER, J. T. Benomyl tolerance in Botrytis cinerea isolates from glasshouse crops . Transactions British Mycological Society, London , 62 (1): 99-103, 1974.
- MILLER, M. W. & JEVES, T. M. The persistence of benomyl tolerance in Botrytis cinerea in glasshouse tomato crops. Plant Pathology, Oxford, 28: 119-22, 1979 .
- MORGAN, D. J. Numerical taxonomic studies of the genus Botrytis. Transactions British Mycological Society , London, 56 (3): 327-35, 1971.
- MOSCA, J. L.; GHINI, R; ROBBS, C. F. Ocorrência e sensibilidade colateral de linhagens de Botrytis cinerea resistentes a benzimidazóis em roseiras em estufas, no Estado de São Paulo. Fitopatologia Brasileira , 1989. (no prelo).

- NACHMIAS, A. & BARASH, I. Decreased permeability as a mechanism of resistance to methyl benzimidazol-2-yl carbamate (MBC) in Sporobolomyces roseus. Journal of General Microbiology, London, 94:167-72, 1976.
- NORTHOVER, J. & MATTEONI, J. A. Resistance of Botrytis cinerea to benomyl and iprodione in vineyards and greenhouses after exposure to fungicides alone or mixed with captan. Plant Disease, St. Paul, 70 (5): 398-402, 1986.
- PANAGIOTAKU, M. G. & MALATHRAKIS, N. E. Resistance of Botrytis cinerea Pers. to dicarboximide fungicides. Netherlands Journal of Plant Pathology, Wageningen, 87: 242, 1981.
- PAPPAS, A. C. & FISHER, D. J. A comparison of the mechanisms of action of vinclozolin, procymidone, iprodione and prochloraz against Botrytis cinerea. Pesticide Science, Oxford, 10: 239-46, 1979.
- PAPPAS, A. C.; COOKE, B. K.; JORDAN, V. W. L. Insensitivity of Botrytis cinerea to iprodione, procymidone and vinclozolin and their uptake by the fungus. Plant Pathology, Oxford, 28: 71-6, 1979.
- PEARSON, R. C.; ROSENBERGER, D. A.; SMITH, C. A. Benomyl - resistant strains of Botrytis cinerea on apples, beans, and grapes. Plant Disease, St Paul, 64 (3): 316-8, mar. 1980.
- PEPIN, H. S. & MacPHERSON, E. A. Strains of Botrytis cinerea resistant to benomyl and captan in the field. Plant Disease, St. Paul, 66(5): 404-5, 1982.

- POLACH, F. J. & MOLIN, W. T. Benzimidazole - resistant mutant derived from a single ascospore culture of Botrytis fuckeliana. Phytopathology, St. Paul, 65: 902-4, ago. 1975.
- POMMER, E. H. & LORENZ, G. Resistance of Botrytis cinerea Pers. to dicarboximide fungicides—a literature review. Crop Protection, Guildford, 1 (2): 221-30, 1982.
- PRESLY, A. H. & MAUDE, R. B. Control of Botrytis cinerea and Botrytis squamosa in overwintered salad onion by fungicide sprays. Annals of Applied Biology, Wellesbourne, 94:197-204, 1980b.
- PRESLY, A. H. & MAUDE, R. B. Tolerance in Botrytis squamosa to iprodione. Annals of Applied Biology, Wellesbourne, 100:117-27, 1982.
- RUPPEL, E. G. Biology of benomyl - tolerant strains of Cercospora beticola from sugar beet. Phytopathology, St. Paul, 65:785-9, jul. 1975.
- RUPPEL, E. G. ; JENKINS, A. D.; BURICH, L. M. Persistence of benomyl - tolerant strains of Cercospora beticola in the absence of benomyl. Phytopathology, St. Paul, 70(1) : 25-6, 1980.
- SCHREIBER, L. R. & TOWNSEND, A. M. Naturally occurring tolerance in isolates of Ceratocystis ulmi to methyl 2-benzimidazolecarbamate hydrochloride. Phytopathology, St. Paul, 66:225-7, fev. 1976.
- SCHROEDER, W. T. & PROVIDENTI, R. Resistance to benomyl in powdery mildew of cucurbits. Plant Disease Reporter, Washington, 53(4): 271-5, abr. 1969.

- SCHUEPP, H. & KUNG, M. Stability of tolerance to MBC in populations of Botrytis cinerea in vineyards of northern and eastern Switzerland. Canadian Journal of Plant Pathology, Guelph, 3:180-1, 1981.
- SOULIER, G. Étude expérimentale de la résistance des Venturia aux benzimidazoles. Lyon, 1984. 110 p. (Doctorado - U.E.R. Faculté de Pharmacie Université de Lyon).
- TOLEDO, A. C. D. de. Resistência a fungicidas. O Biológico, São Paulo, 40: 163-70, 1974.
- TRIPATHI, R. K. & SCHLOSSER, E. The mechanism of resistance of Botrytis cinerea to methyl benzimidazol -2- yl carbamate (MBC). Journal of Plant Disease and Protection, Stuttgart, 89 (3) : 151-6, 1982.
- TUYL, J. M. van. Genetics of fungal resistance to systemic fungicides. Mededelingen Landbouwhogeschool, Wageningen, 77-2, 1977. 236p .
- TUYL, J. M. van; DAVIDSE, L. C.; DEKKER, J. Lack of cross resistance to benomyl and thiabendazole in some strains of Aspergillus nidulans. Netherlands Journal of Plant Pathology, Wageningen, 80:165-8 , 1974.
- WATSON, A. G. & KOONS, C. E. Increased tolerance to benomyl in greenhouse population of Botrytis cinerea. Phytopathology St. Paul, 63:1218-9, 1973 .
- WUEST, P. J.; COLE JR., H.; SANDERS, P. L. Tolerance of Verticillium malthousei to benomyl . Phytopathology, St. Paul, 64:331-4, mar. 1974.

Impressão e acabamento:

SERVIÇOS GRÁFICOS DEGASPARI LTDA.
Rua Barão de Piracicamirim, 1928-V. Independência
Telefone (DDD 0194) 33-67-48
13.400 PIRACICABA - SP

