



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



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**Sensibilidade de *Colletotrichum musae* proveniente de
áreas de cultivo do México a fungicidas metil benzimidazol
carbamatos e habilidade competitiva de isolados**

Ana Gabriele Gurgel Amaral

**Recife - PE
2019**

ANA GABRIELE GURGEL AMARAL

SENSIBILIDADE DE *Colletotrichum musae* PROVENIENTES DE ÁREAS DE CULTIVO DO MÉXICO A FUNGICIDAS METIL BENZIMIDAZOL CARBAMATOS E HABILIDADE COMPETITIVA DE ISOLADOS

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

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof. Dr. Ueder Pedro Lopes (UFRPE-UAG)

**RECIFE - PE
JULHO – 2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

A485s Amaral, Ana Gabriele Gurgel.
 Sensibilidade de *Colletotrichum musae* proveniente de áreas de cultivo
 do México a fungicidas metil benzimidazol carbamatos e habilidade competitiva de isolados
 / Ana Gabriele Gurgel Amaral . – Recife, 2019.
 58f. : il.

 Orientador: Ueder Pedro Lopes.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de
 Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, BR-PE, 2019.
 Inclui referências.

 1. Antracnose 2. Banana 3. Benzimidazóis 4. Musa spp. I. Lopes, Ueder Pedro, orient.
 II. Título

CDD 632

SENSIBILIDADE DE *Colletotrichum musae* PROVENIENTES DE ÁREAS DE CULTIVO DO MÉXICO A FUNGICIDAS METIL BENZIMIDAZOL CARBAMATOS E HABILIDADE COMPETITIVA DE ISOLADOS

ANA GABRIELE GURGEL AMARAL

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 15/07/2019

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Ueder Pedro Lopes (UFRPE)

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Alexandre Sandri Capucho (UNIVASF)

Prof. Dr. André Ângelo Medeiros Gomes (UFRPE)

**RECIFE - PE
JULHO – 2019**

A minha avó Josefa Batista Gurgel (*in memoriam*)
por todo, amor, apoio e incentivo durante essa
jornada.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Virgem Santíssima por toda força, coragem e amor;

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pelo apoio institucional, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e as instituições CNPq e FACEPE pelo apoio;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia (PPGF) da UFRPE por todo ensinamento transmitido e acolhida;

Ao professor Ueder Pedro Lopes pela orientação, ensinamentos, parceria e compreensão diante das minhas limitações, eterna gratidão;

Aos meus pais e minhas irmãs, que mesmo longe se fizeram presentes, concedendo todo apoio e amor necessário nessa jornada;

Ao meu sobrinho, Arthur, por todo amor transmitido;

Ao meu noivo, companheiro e amigo Dayvisson Luiz, por ter embarcado comigo nessa caminhada, por sua compreensão, companheirismo, dedicação e incentivo durante essa jornada, com você tudo ficou mais fácil, te amo;

Aos funcionários do PPGF, Darcy e Romildo por sempre estarem prontos a ajudar e solucionar problemas;

Aos amigos de turma, em especial a Íris Carolina por sua parceria, amizade, paciência e cumplicidade nos momentos compartilhados, sendo muitas vezes a calma em meio a tantos experimentos;

Ao Laboratório de Fitopatologia da Unidade Acadêmica de Garanhuns/ UFRPE pela parceria e acolhimento;

Ao Laboratório de Patologia Pós-Colheita pela acolhida;

Ao Laboratório de Interação Patógeno-Hospedeiro, em especial ao Professor Dr. Jonas Rios, pela acolhida;

Aos amigos fiéis que conquistei ao longo desse caminho em especial, Atháise, Bárbara, Beatriz, Erasmo, Erivaldo, Kledson, Leandro, Mayara e Suzy por fazerem os meus dias mais felizes;

A minha eterna orientadora, Dr^a Marissônia de Araújo Noronha, por todos os ensinamentos, coragem e ombro amigo nos momentos de dificuldade;

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

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	1
GENERAL ABSTRACT	2
Capítulo I	10
A cultura da banana e sua importância no México	11
Antracnose da banana	13
Resistência a fungicidas benzimidazóis	15
Adaptabilidade.....	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
Capítulo II	26
Resumo	28
Introdução.....	29
Materiais e métodos.....	29
Resultados.....	36
Discussão.....	38
Agradecimentos	41
Referências bibliográficas	41
Capítulo III	57

RESUMO GERAL

A antracnose da banana, causada por *Colletotrichum musae*, é uma das principais doenças em pós-colheita da cultura e dentre as medidas de manejo recomenda-se o uso de fungicidas, com destaque para os pertencentes ao grupo dos metil benzimidazol carbamato, sendo esses muito comuns nas principais regiões produtoras de banana do México. A constante exposição das populações de *C. musae* a esses fungicidas podem levar a pressão de seleção, e consequentemente o surgimento e seleção de indivíduos resistentes, resultando na perda de eficácia de controle. Diante disso, foi avaliada a sensibilidade de 45 isolados de *C. musae* provenientes de áreas de cultivo de banana do México aos fungicidas carbendazim, tiofanato metílico, tiabendazol e benomil. A sensibilidade foi avaliada em um ensaio de crescimento micelial *in vitro*, a partir da estimativa da concentração de fungicida efetiva capaz de inibir 50% do crescimento micelial (CE₅₀). Foram selecionados cinco isolados com os menores valores de CE₅₀ (sensíveis, S) e cinco com os maiores valores (menos sensíveis, MS) para ambos os fungicidas. Estes isolados foram comparados quanto à sensibilidade, estabilidade da sensibilidade, componentes de adaptabilidade (taxa de crescimento micelial, produção e germinação de conídios e virulência), eficácia de controle da doença em frutos de banana e habilidade competitiva. A detecção de mutação conferindo resistência também foi verificada. De modo geral, a maioria dos isolados foram sensíveis aos fungicidas. Os valores de CE₅₀ variaram de 1,9 a 158,9 µg.mL⁻¹ para carbendazim, de 0,07 a 162,9 µg.mL⁻¹ para tiofanato metílico, de 0,06 a 12,71 µg.mL⁻¹ para tiabendazol, e de 0,007 a 54,5 µg.mL⁻¹ para benomil. Não foram observadas diferenças na sensibilidade dos isolados S e MS após dez transferências sequenciais em meio BDA sem fungicida (P<0,05). Não foi constatada diferença significativa entre os componentes de adaptabilidade avaliados para os isolados testados (P<0,05). Todos os fungicidas foram eficazes em controlar a doença causada pelos isolados em frutos inoculados, entretanto, maior eficiência foi constatada para isolados S. Isolados menos sensíveis foram mais competitivos em todas as proporções avaliadas nos testes *in vitro* e *in vivo*. Mutação foi detectada no códon 200 do gene da β-tubulina para o isolado MS CMM-3483. Os resultados apontam a presença de indivíduos menos sensíveis e com boa capacidade competitiva, sendo necessário monitoramento constante das populações a fim de auxiliar na implementação de medidas visando um manejo eficiente da antracnose nas regiões produtoras de banana do México.

Palavras-chave: Antracnose, banana, benzimidazóis, *Musa* spp.

GENERAL ABSTRACT

The anthracnose of banana, caused by *Colletotrichum musae*, is one of the main post-harvest diseases of the crop and among the management measures it is recommended to use fungicides, especially those belonging to the methyl benzimidazole carbamate group, which are very common in the main banana producing regions of Mexico. The constant exposure of populations of *C. musae* to these fungicides can lead to selection pressure, and consequently the emergence and selection of resistant individuals, resulting in loss of control efficacy. Therefore, the sensitivity of 45 isolates of *C. musae* from Mexican banana cultivars to the fungicides carbendazim, methyl thiophanate, thiabendazole and benomyl were evaluated. Sensitivity was evaluated in an in vitro mycelial growth assay, from the estimated effective fungicide concentration capable of inhibiting 50% mycelial growth (EC50). Five isolates with the lowest values of EC50 (sensitive, S) and five with the highest values (less sensitive, MS) were selected for both fungicides. These isolates were compared for sensitivity, sensitivity stability, adaptability components (mycelial growth rate, conidia production and germination and virulence), disease control efficacy in banana fruits and competitive ability. Detection of mutation conferring resistance was also checked. In general, most isolates were sensitive to fungicides. EC50 values ranged from 1.9 to 158.9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ for carbendazim, 0.07 to 162.9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ for methyl thiophanate, 0.06 to 12.71 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ for thiabendazole, and 0.007 to 54.5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ for benomyl. No differences in sensitivity of S and MS isolates were observed after ten sequential blots in BDA medium without fungicide ($P < 0.05$). There was no significant difference between the adaptability components evaluated for the isolates tested ($P < 0.05$). Fungicides were able to control infection in banana fruits inoculated with S and MS isolates. Resistant isolates were more competitive than the sensitive ones in all ratios evaluated. Mutation was detected at codon 200 of the β -tubulin gene for MS isolate CMM-3483. The results point to the presence of less sensitive individuals with good competitive capacity, and it is necessary to monitor the populations in order to assist in the implementation of measures aimed at the efficient management of anthracnose in the banana producing regions of Mexico.

Keywords: Anthracnose, banana, benzimidazole, *Musa* spp.

CAPÍTULO I

Introdução Geral

SENSIBILIDADE DE *Colletotrichum musae* PROVENIENTES DE ÁREAS DE CULTIVO DO MÉXICO A FUNGICIDAS METIL BENZIMIDAZOL CARBAMATOS E HABILIDADE COMPETITIVA DE ISOLADOS

INTRODUÇÃO GERAL

1. A cultura da banana e sua importância no México

A banana (*Musa* spp.) é uma das frutas mais consumidas no mundo, com importância alimentar equiparada à de cereais como arroz, trigo e milho. Esta fruta é cultivada em regiões tropicais e subtropicais e assume papel fundamental na alimentação da população, principalmente a mais pobre (GANGA, 2002). O mercado internacional encontra-se em constante ascensão em função da globalização das economias mundiais, do aumento de renda nos países emergentes e da mudança de hábitos alimentares da população, que busca a cada dia uma alimentação mais saudável, consumindo mais frutas (DOSSA; FUCHS 2017).

Acredita-se que o centro de origem da banana seja o Sul e Sudeste da Ásia, embora existam centros de origem secundários na África Oriental e nas ilhas do Pacífico, além da África Ocidental (DANTAS *et al.*, 1997).

A banana é uma monocotiledônea pertencente à família *Musaceae*, que engloba dois gêneros, *Musa* e *Ensete*, embora este último não possua frutos comestíveis (SIMÃO, 1998). O gênero *Musa* apresenta cerca de 30 espécies, das quais são originados todos os frutos partenocárpicos comestíveis. Desse gênero, destaca-se a espécie *Musa acuminata*, da qual derivaram todas as bananeiras comestíveis, que em associação com a espécie *Musa balbisiana* resultou na formação dos grupos diploides (AA, BB), triploides (AAA, AAB, ABB) e tetraploides (AAAA, AABB, AAB, ABBB) (BLEINROTH, 1995; DANTAS *et al.*, 1997).

Dentro de cada grupo, encontram-se diversas cultivares de importância econômica: no grupo das diplóides, destaca-se a cultivar Ouro; no grupo das triplóides, estão as cultivares Caipira, Gros Michel, Maçã e Misoure, e os subgrupos Cavendish (cultivares Nanica, Nanicão, Grande Naine e Williams), Prata (cultivares Prata, Branca e Pacovan), Terra (cultivares Terra, Terrinha, Pacova D'Angola) e Figo (cultivares Figo Vermelho e Figo Cinza); no grupo das tetraplóides, destacam-se as cultivares Ouro da Mata, Pioneira e Platina (OLIVEIRA, 2010).

Em 2017, a área mundial plantada com banana foi de aproximadamente 5,4 milhões de hectares, com uma produção em torno de 114 milhões de toneladas. Os principais continentes

produtores são a Ásia (55,8%), as Américas (24,7%) e a África (17,9%), enquanto Oceania e Europa somam juntos menos de 2% da produção mundial de banana. Entre os países, a Índia destaca-se como o principal produtor dessa fruta, com produção em torno de 30 milhões de toneladas, seguida pela China (11 milhões), Indonésia (7,1 milhões) e Brasil (6,6 milhões). Juntos, esses países correspondem a aproximadamente 50% da produção mundial da fruta (FAO, 2017).

O México é o 12º maior produtor de banana do mundo, com uma produção de aproximadamente 2,2 milhões de toneladas (FAO, 2017). De acordo com o Serviço de Informações Agropecuárias e Pescas (SAGARPA, 2017), de 2013 a 2016, a produção de bananas no México cresceu 270 mil toneladas, o que representa um aumento de 12,9% em quatro anos. A produção no país ocupa uma área de aproximadamente 78,6 mil ha, em 16 estados: Campeche, Chiapas, Colima, Estado do México, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz e Yucatán. Os cinco principais estados produtores são Chiapas, Tabasco, Veracruz, Jalisco e Colima, com uma produção estimada de 2 milhões e 45 mil toneladas em 2016, o que representa 84,5% do volume nacional registrado. Em 2016, a produção em Chiapas foi de 708 mil toneladas (29,3% do total do país), seguido por Tabasco, com 601,7 mil toneladas (24,9%), Veracruz, com 322,6 mil toneladas (13,3%), Jalisco, com 217,5 mil toneladas (9%), e Colima, com 195,1 mil toneladas (8,1%) (SAGARPA, 2017).

A maior produção é encontrada na região sul-sudeste do país, que possui as condições geográficas adequadas para a produção desta cultura, com solos argilosos, aluviais, arejados e drenados, e com pH variando de 6,0 a 7,5 (SIAP, 2018). O clima nessa região é predominantemente tropical úmido e seco, possuindo uma estação seca pronunciada, com temperatura média anual de 27,1 °C. Os meses de inverno seco normalmente têm menos de 40 mm de chuva, em comparação com mais de 150 mm em cada um dos meses de verão (GEO-MEXICO, 2013).

A banana produzida no país representa 11,3% da produção nacional de frutos, sendo exportada para 34 países, dentre os quais estão Estados Unidos, Guatemala, Países Baixos, Reino Unido, Espanha, Japão, Rússia, Coreia do Sul, Albânia, Túnez, Singapura, Nova Zelândia, Portugal, Hong Kong, Bélgica, Itália, Canadá, Alemanha, Irlanda, Lituânia e Turquia. Em 2016, o México exportou uma em cada cinco toneladas de bananas que produziu, arrecadando um valor de 197 milhões e 78 mil dólares, o que representou um crescimento de 6% em relação ao ano anterior (SAGARPA, 2017). Em 2017, o consumo per capita no

México foi de 15,7 kg, e houve uma balança comercial positiva de 195,5 milhões de dólares (SIAP, 2018).

1.1 Antracnose da banana

Um dos grandes desafios da bananicultura, no que se refere à qualidade do fruto, se encontra no manejo em pós-colheita. Nesta fase, a principal doença é a antracnose, causada por espécies de fungo do gênero *Colletotrichum*, incluindo *Colletotrichum siamense*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum tropicale*, *Colletotrichum theobromicola*, *Colletotrichum scovillei* e *Colletotrichum musae*, sendo esta última a principal espécie associada à doença, podendo gerar perdas de até 40% da produção (KUMAR *et al.*, 2016; MIRSHAKARI *et al.*, 2012; PERES *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2016; VIEIRA *et al.*, 2018; ZAKARIA; SAHAK; SALLEH, 2009; ZHOU *et al.*, 2016). A importância dessa doença está relacionada à sua alta frequência, principalmente em cultivos comerciais nos quais não são adotadas as medidas de controle adequadas.

A doença ocorre principalmente na fase de maturação dos frutos, embora a infecção inicie ainda no campo, onde os conídios, dispersos no ar, infectam os frutos. A infecção permanece quiescente até o início da maturação. As duas formas distintas da doença são a antracnose latente originária da infecção quiescente e a antracnose não latente, produzida pela invasão do patógeno, principalmente por intermédio dos ferimentos ocasionados nos frutos verdes em trânsito (CORDEIRO; MATO; KIMATI, 2016).

A antracnose caracteriza-se pela formação de pequenas lesões que podem coalescer, formando grandes áreas necróticas e deprimidas. Em condições de umidade elevada, as lesões são cobertas de frutificação de coloração rosa, onde os acérvulos de *C. musae* irão adquirir uma aparência acinzentada. Os esporos que são liberados dos acérvulos depositam-se sobre os frutos verdes, no campo, onde germinam e depois penetram, permanecendo a infecção latente até o início da maturação (CORDEIRO, 1997; CORDEIRO; MATO; KIMATI, 2016).

Os conídios são produzidos em restos culturais em condições de alta umidade e germinam entre 4 e 24 h, sendo dispersos por chuva, vento e insetos. Os conídios podem permanecer viáveis por longos períodos no tecido da casca, em acérvulos que os protegem de variações extremas de umidade e temperatura. A penetração ocorre entre 24 e 48 h, ocasionando uma reação de hipersensibilidade nas células adjacentes da epiderme, que irão acumular fitoalexinas e tornar a infecção latente até a maturação (JEGER *et al.*, 1995; PLOETZ *et al.*, 2003).

Em frutos verdes, com a presença de injúrias mecânicas, os sintomas consistem em manchas enegrecidas com halo esbranquiçado ao seu redor. Em frutos maduros, as manchas são oriundas das infecções latentes produzidas no bananal, apresentando coloração marrom escura. As manchas aceleram o processo de maturação da fruta, tendendo a crescer e se tornar deprimidas em seu centro, onde são formados os acérvulos cobertos por uma massa de esporos de coloração rósea (JEGER *et al.*, 1995).

Comumente, a polpa da fruta não é afetada, exceto na presença de altas temperaturas ou quando os frutos se encontram em estágio adiantado de maturação. As condições ambientais estão altamente relacionadas com a incidência e severidade da doença, pois influenciam as fases do ciclo de vida do patógeno e também o desenvolvimento do hospedeiro, auxiliando o processo infeccioso (CORDEIRO, 1997; MAFIA *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

As medidas de controle recomendadas para essa doença iniciam-se no campo, com boas práticas culturais, como a desfolha, o despencamento e a remoção de restos culturais, sendo esta a principal forma de combater a fonte de inóculo inicial (COELHO *et al.*, 2010). Além disso, deve-se realizar o monitoramento da intensidade da doença, que permite conhecer as épocas mais críticas de ocorrência e identificar os níveis de dano econômico (VIEIRA JUNIOR *et al.*, 2008). O tratamento em pós-colheita, como lavagem e embalagem cuidadosa dos frutos com medidas rígidas de assepsia, é uma forma de reduzir o desenvolvimento do patógeno em infecções quiescentes e proteger o fruto de infecções secundárias ocorridas durante o armazenamento e transporte para os mercados consumidores (LIMA *et al.*, 2001).

Apesar das diversas restrições relacionadas ao uso de fungicidas, como fitotoxicidade dos produtos aplicados e efeitos residuais nos frutos (COSTA; GUNAWARDHANA, 2012), esta é a principal medida de manejo da doença, iniciada ainda no campo, e nos períodos que antecedem a abertura das flores. O intervalo de aplicação depende do monitoramento da doença e das condições climáticas predominantes nas regiões produtoras, variando de 7 a 14 dias em períodos chuvosos, e de 14 a 30 dias em períodos secos. No entanto, sob condições climáticas altamente favoráveis à ocorrência da doença e na presença de alta quantidade de inóculo na área, o intervalo de pulverizações deve ser reduzido para sete ou quatro dias (CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2016; TATAGIBA *et al.*, 2002).

No México, os fungicidas utilizados para controle da antracnose da banana são pertencentes ao grupo dos metil benzimidazois carbamatos (MBCs) e estrobirulinas. De acordo com o registro sanitário de defensivos agrícolas da Comissão Federal para a Proteção contra Riscos Sanitários (COFEPRIS, 2019) os mais utilizados são azoxistrobina, tiabendazol e benomil.

Em nível nacional, os estados com maior uso de fungicidas são Sinaloa, Chiapas, Veracruz, Jalisco, Michoacán, Tabasco, Estado do México, Puebla e Oaxaca, que representam 80% do total do uso de fungicidas no país (ALBERT, 2005). Dentre estes, destacam-se os estados de Chiapas, Veracruz e Tabasco, por serem reconhecidos como os maiores produtores de banana do país.

É importante ressaltar que, em áreas de cultivo de banana do México, ocorre a incidência da doença sigatoka negra, causada pelo fungo *Mycosphaerella fijiensis*, cuja principal medida de controle é o uso de fungicidas MBC no campo, como carbendazim, tiofanato-metílico e benomil (MENA-ESPINO; COUOH-UICAB, 2015).

2. Resistência a fungicidas benzimidazois

O controle químico de doenças de plantas é uma das principais medidas de manejo empregadas na agricultura, por permitir prevenir infecções de fitopatógenos que podem vir a se instalar ou controlar infecções já instaladas nos tecidos das plantas hospedeiras (ZAMBOLIM; VENANCIO; OLIVEIRA, 2007).

Em todo o mundo, esse controle é prioritariamente realizado pelo emprego de fungicidas, por apresentarem diversas vantagens, como a facilidade de aplicação e rápida obtenção de resultados. Entretanto, o uso de controle químico vem enfrentando problemas, devido ao surgimento de variantes resistentes na população (ISHII; HOLLomon, 2015).

A resistência ao fungicida pode ser definida como um ajuste estável e hereditário, resultando na redução da sensibilidade do fungo ao fungicida (MA; MICHALIDES 2005) e pode ser dada por vários mecanismos genéticos e bioquímicos, como: uma alteração sítio-alvo, o que irá reduzir a ligação do fungicida; síntese de uma enzima alternativa capaz de substituir a enzima alvo; a superprodução da enzima alvo do fungicida; efluxo ativo ou reduzido para absorção do fungicida; um colapso metabólico do fungicida (LEUROX; WALKER, 2011; BRENT; HOLLomon, 2007).

A resistência pode ser definida como qualitativa ou quantitativa. A resistência qualitativa envolve mudança em apenas um gene ou em um conjunto de genes dominantes do patógeno, que pode resultar na ineficiência do fungicida. Por outro lado, a resistência quantitativa está relacionada a mudanças em vários genes do patógeno, resultando em ineficiência gradual do fungicida (RUSSEL, 2002).

A especificidade dos fungicidas, aliada às aplicações em excesso, sem alternância de ingrediente ativo (i.a.) ou aplicação de fungicidas com ingredientes ativos isolados, faz com

que haja alto risco de resistência adquirida pelo patógeno, o que vem comprometendo o controle efetivo de algumas doenças de plantas (FISCHER *et al.*, 2017).

Os MBCs foram o primeiro grupo de fungicidas sistêmicos, ditos como altamente eficazes, lançado no mercado no fim dos anos 60. Apresentam amplo espectro de ação contra fungos ascomicetos e alguns basidiomicetos, porém, não possuem eficácia no controle de oomicetos. Os fungicidas MBC disponíveis no mercado contêm os seguintes ingredientes ativos: carbendazim, benomil, tiofanato-metílico, tiabendazol e fuberidazol (ISHII; HOLLomon, 2015; FRAC 2016).

A alta especificidade deste grupo de fungicidas faz com que apresentem um alto risco de resistência adquirida pelo patógeno. Os MBCs interferem especificamente na divisão celular de fungos, pois apresentam atividade seletiva de ligação à tubulina, impedindo que ocorra a polimerização dos microtúbulos formadores do fuso mitótico. A tubulina é um dímero de proteína que consiste em subunidades α e β , sendo o principal componente dos filamentos de microtúbulos, que desempenham um papel central na divisão nuclear em todas as células eucarióticas (ISHII; HOLLomon, 2015). Devido a esta especificidade, uma única mutação no gene da β -tubulina, que altere a sequência de aminoácidos da proteína, pode levar à redução da afinidade do fungicida pela proteína, o que implicará no surgimento de um variante resistente (ISHII, 2011). Essa mutação foi detectada em alguns códons, como 6, 50, 167, 198, 200 e 240, porém, as mais comumente encontradas são as dos códons 198 e 200 (FRAC 2019; KOENRAADT; JONES, 1993; MA; MICHALIDES 2005).

A resistência a MBCs, conferida por mutações em diferentes códons no gene β -tubulina, tem sido relatada para diversas espécies: no códon 198 para *Helminthosporium solani* (MCKAY; COOK 1997), nos códons 6 e 198 para *Monilinia fructicola* (MA *et al.*, 2003), e nos códons 198 e 200 em *Tapesia vallundae*, *T. acufiformis* (ALBERTINI; GRETT; LEUROX, 1999) e *Penicillium digitatum* (MIN-HUEY *et al.*, 2011). Em *C. gloeosporioides*, a análise de isolados resistentes a MBCs revelou mutações pontuais do gene da β -tubulina, sendo encontrada uma substituição de GCG por GAG no códon 198 e uma substituição de TAC por TTC no códon 200 (CHUNG *et al.*, 2006; CHUNG *et al.* 2010). Em *C. cereale*, *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*, *C. siamense* e *C. truncatum*, foram constatados em todos isolados menos sensíveis a MBCs a presença de mutação no códon 198, com alteração de ácido glutâmico (GAG) para lisina (AAG) (HU *et al.*, 2015; RAMDIAL, HOSEIN, RAMPERSAD, 2016; WONG *et al.*, 2007). Para a espécie *C. musae*, foi verificada a mutação de um único par de bases no códon 200, convertendo fenilalanina (TTC) para tirosina (TAC) na região codificante de TUB2, sendo essa mutação correlacionada com a resistência a

tiofanato-metílico em isolados desse fungo (VIEIRA *et al.*, 2017). No México, um estudo sobre a resistência de isolados de *C. truncatum* a tiabendazol revelou a presença de uma mutação no códon 198, que levou à substituição do ácido glutâmico por alanina. Torres-Calzada *et al.* (2015). Outros estudos têm demonstrado a redução de sensibilidade a fungicidas MBCs em *C. musae* (BELLAIRE; DUBOS 1997; GRIFFEE, 1973) e *C. acutatum* (CAO *et al.*, 2017). Porém, não foi realizada a análise molecular para detectar a presença ou não de mutação conferindo a resistência.

Apesar de mutações no gene β -tubulina serem frequentemente associadas ao desenvolvimento de resistência, nem sempre essa mutação é detectada em isolados menos sensíveis a MBC, como verificado para *C. acutatum* (BAGGIO *et al.*, 2018), Botryosphaericiaceae (SANTOS *et al.*, 2018) e *C. gloeosporioides* (KIM *et al.*, 2007). Portanto, outros mecanismos podem estar associados à redução da sensibilidade. Isso foi verificado em isolados de *Aspergillus nidulans*, com mecanismos de efluxo envolvendo uma proteína que afeta a sensibilidade a carbendazim e tiabendazol (ANDRADE *et al.*, 2000), ou em isolados de *C. acutatum*, onde a superexpressão do gene tubulina se mostrou relacionada à insensibilidade a MBCs (NAKAUNE; NAKANO 2007).

Vale ressaltar que diferentes mecanismos estão relacionados à resposta de sensibilidade a fungicidas, levando a variações de sensibilidade de isolados do mesmo local ao mesmo fungicida. No caso dos MBCs, parte dessa variação pode estar relacionada ao fato do funcionamento do fungicida ser dependente da sua conversão em um anel benzimidazol. Essa diferença também pode ser atribuída à pressão de seleção imposta pelo uso intenso de fungicidas com um mesmo modo de ação (CHUNG *et al.* 2009; GULART, 2009; MARINGONI; BARROS 2002; PICININI, 1994; REUVENI; SHEGLOV 2002).

Uma característica comum da resistência a MBCs é a ocorrência de resistência cruzada entre diferentes fungicidas, ou seja, quando ocorre resistência a um composto, todos os outros compostos pertencentes ao grupo perdem sua eficácia, uma vez que os mecanismos que governam a resistência aos fungicidas MBC são semelhantes (MA; MICHAILDES, 2005).

Embora os fungicidas possam exercer uma pressão seletiva muito forte em favor da resistência, essa vantagem seletiva pode ser compensada pelos custos de adaptação. As penalidades de aptidão física podem reduzir a vantagem seletiva geral da resistência sob tratamento com fungicida, mas, mais significativamente, podem até levar a reversões da evolução da resistência (ALLEN *et al.*, 2017; BOSCH *et al.*, 2014).

1.4 Adaptabilidade

A adaptabilidade pode ser definida como a capacidade de uma determinada linhagem se desenvolver, reproduzir e sobreviver, quando comparada à outra linhagem exposta às mesmas condições (HAWNKINS; FRAAIJE, 2018; ISHII; HOLOMON, 2015). Após o surgimento de indivíduos resistentes em uma população, o aumento da sua frequência só ocorrerá se possuírem uma boa adaptabilidade, ou seja, uma boa capacidade competitiva (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2001).

Diversos fatores compõem a adaptabilidade, incluindo a capacidade de infecção, a velocidade de colonização do tecido hospedeiro, a esporulação, a capacidade de sobrevivência e, principalmente, a capacidade de competir com indivíduos sensíveis na ausência do fungicida (GHINI; KIMATI, 2000). Estes fatores definem o sucesso do indivíduo resistente na população.

A adaptabilidade depende, em grande parte, de qual gene (ou genes) sofreu a mutação que levou à resistência. Assim, se o gene era importante para a competitividade, então o mutante terá baixa adaptabilidade; caso contrário, continuará com sua adaptabilidade inalterada. Essa adaptabilidade do mutante tem estreita correlação com o modo de ação do fungicida, e mutantes bem adaptados surgem com mais facilidade frente a determinados princípios ativos (SILVA JUNIOR; BEHLAU, 2018).

O custo de adaptação de uma mutação que confere resistência a fungicidas pode ser definido como a diferença de aptidão entre o isolado resistente do patógeno portador da mutação e o isolado do patógeno sensível, na ausência do fungicida (ISHII; HOLLON, 2015). Se um isolado resistente apresenta menor adaptabilidade, a estabilidade da resistência e sua seleção em uma população serão reduzidas. Por outro lado, um isolado resistente que apresente alta adaptabilidade tenderá a aumentar em frequência na população, podendo permanecer por longo período, mesmo na ausência do fungicida (WALKER *et al.*, 2013).

Diferentes características epidemiológicas podem ser avaliadas, *in vitro* e *in vivo*, para definir a aptidão física de um isolado, como crescimento micelial, esporulação, taxa de germinação de esporos, sensibilidade osmótica, virulência, competição de esporos, dentre outros (KIM; XIAO, 2011; LICHTENBERG, *et al.*, 2018; RALLOS *et al.*, 2014). Estudos com *Penicillium expansum* demonstraram que isolados resistentes apresentam menor crescimento micelial e agressividade quando comparados a isolados sensíveis (KARAOGLANIDIS; THANASSOULOPOULOS; IOANNIDIS, 2001). Em *Monilinia fructicola*, a avaliação da taxa de crescimento micelial, esporulação e tamanho da lesão para isolados resistentes revelaram uma menor adaptabilidade em relação aos isolados sensíveis

(CHEN *et al.*, 2012). Porém, outros estudos demonstraram que não houve diferença de adaptabilidade entre isolados resistentes e sensíveis. Em isolados de *Lasiodiplodia theobromae* provenientes de plantios de mamão não foi constatada diferença de adaptabilidade, quando avaliados o crescimento micelial e a virulência entre isolados resistentes e sensíveis (PEREIRA, *et al.*, 2012). Isolados resistentes de *Botryosphaeriaceae* não apresentaram diferença na adaptabilidade, com base em crescimento micelial, tamanho da lesão, sensibilidade osmótica, além de manter essas características adaptativas durante dez gerações, quando comparados a isolados sensíveis (SANTOS *et al.*, 2019). Para isolados de *C. musae*, não foram detectadas diferenças em adaptabilidade, quando avaliados crescimento micelial, produção de esporos, germinação de esporos, sensibilidade osmótica e virulência, entre isolados sensíveis e moderadamente resistentes (VIEIRA *et al.*, 2017).

Diante disso, são necessárias maiores informações sobre a sensibilidade e adaptabilidade de isolados resistentes a fungicidas, para um melhor direcionamento de estratégias de manejo, maximizando a eficiência no uso de fungicidas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade e a adaptabilidade de isolados de *C. musae* provenientes de áreas de cultivo de bananeira das principais regiões produtoras do México aos fungicidas benomil, tiofanato-metílico, carbendazim e tiabendazol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERT, L. A. Panorama de los plaguicidas en México. **Revista de Toxicología**, Sevilla, n. 22, v. 2, p. 1-17, 2005.
- ALBERTINI, C.; GREDET, M.; LEROUX, P. Mutations of the β -tubulin gene associated with different phenotypes of benzimidazole resistance in the cereal eyespot fungi *Tapesia yellundae* and *Tapesia acuformis*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 64, n. 1, p. 17-31, 1999.
- ALLEN, R. C.; ENGELSTADTER, J.; BONHOEFFER, S.; McDONALD, B.A.; HALL, A. R. Reversing resistance: different routes and common themes across pathogens. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 284, n. 1863, p. 20171619, 2017.
- ANDRADE, A. C.; DEL SORBO, G.; NISTELROY, J. G. M.; DE WAARD, M. A. The ABC transporter from *Aspergillus nidulans* is involved in resistance to all major classes of fungicides and natural toxic compounds. **Microbiology Reading**, Inglaterra, v. 146, p. 1987-1997, 2000.
- BAGGIO, J. S.; WANG, N. Y.; PERES, N. A.; AMORIM, L. Baseline sensitivity of *Colletotrichum acutatum* isolates from Brazilian strawberry fields to azoxystrobin, difenoconazole, and thiophanate-methyl. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 43, n. 6, p. 533-542, 2018.
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Epidemiologia comparativa entre os patossistemas temperado e tropical: consequências para a resistência a fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 119-127, 2001.
- BLEINROTH, E. W. Banana: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. rev. e ampl. **Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos-ITAL**, 1995.
- BOSCH, F. V. D.; OLIVER, R.; BERG, F. V. D.; PAVELEY, N. Governing principles can guide fungicide-resistance management tactics. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 52, p. 175-195, 2014.
- BRENT, K.J.; HOLLOMON, D.W. **Fungicide resistance: the assessment of risk**. 2º. ed. Brussels: Fungicide Resistance Action Committee, 2007. 53 p.
- CAO, X.; XU, X.; CHE, H.; WEST, J. S.; LUO, D. Distribution and fungicide sensitivity of *Colletotrichum* species complexes from rubber tree in Hainan, China. **Plant disease**, Saint Paul, v. 101, n. 10, p. 1774-1780, 2017.
- CHEN, F. P.; FAN, J. R.; ZHOU, T.; LIU, X.; LIU, J. L.; SCHNABEL, G. Baseline sensitivity of *Monilinia fruticola* from China to the DMI fungicide SYP-Z048 and analysis of DMI-resistant mutants. **Plant disease**, Saint Paul, v. 96, n. 3, p. 416-422, 2012.
- CHUNG, W. H.; CHUNG, W. C.; PENG, M. T.; YANG, H. R.; HUANG, J. W. Specific detection of benzimidazole resistance in *Colletotrichum gloeosporioides* from fruit crops by PCR-RFLP. **New biotechnology**, Barcelona, v. 27, n. 1, p. 17-24, 2010.
- CHUNG, W. H.; CHUNG, W. C.; TING, P. F.; RU, C. C.; HUANG, H. C.; HUANG, J. W. Nature of resistance to methyl benzimidazole carbamate fungicides in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lilii* and *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* in Taiwan. **Journal of phytopathology**, Oxford, v. 157, n.11-12, p. 742-747, 2009.
- CHUNG, W. H.; ISHII, H.; NISHIMURA, K.; FUKAYA, M.; YANO, K.; KAJITANI, Y. Fungicide sensitivity and phylogenetic relationship of anthracnose fungi isolated from various fruits crops in Japan. **Plant disease**, Saint Paul, v. 90, p. 506-512, 2006.
- COELHO, A. F. S.; DIAS, M. S. D. C.; RODRIGUES, L. M. L.; LEAL, P. A. M. Controle pós-colheita da antracnose da banana-prata anã tratada com fungicidas e mantida sob refrigeração. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 2010.
- CORDEIRO, Z. J. M. Doenças e nematoides. In: ALVES, E. J. *et al.* (Ed.). **Banana para exportação: aspectos técnicos da produção**. 2 ed. Brasília: Embrapa-SPI, 1997, 86 p.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. **Doenças da bananeira**. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.) Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas, v.2, 5. ed., São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. v.5, cap.15, p. 109-123.

COSTA, D. M.; GUNAWARDHANA, H. M. D. M. Effects of sodium bicarbonate on pathogenicity of *Colletotrichum musae* and potential for controlling postharvest diseases of banana. **Postharvest biology and technology**, Amsterdam, v. 68, p. 54-63, 2012.

DANTAS, L. L.; SHEPHERD, K.; OLIVEIRA E SILVA, S. de; SOARES FILHO, W. dos S. Classificação botânica, origem, evolução e distribuição geográfica. In: ALVES, E. J. (Org.). **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília, DF: Embrapa SPI; Cruz das Almas: Embrapa-CNPMF, 1997, p.587.

DE LAPEYRE DE BELLAIRE, L.; DUBOIS, C. Distribution of thiabendazole-resistant *Colletotrichum musae* isolates from Guadeloupe banana plantations. **Plant disease**, Saint Paul, v. 81, n. 12, p. 1378-1383, 1997.

DELP, C. J. Benzimidazole and related fungicides. In: L. Y. R., H. (Ed.). **Modern selective fungicides – properties, applications, mechanisms of action**. 2. ed. Jena: Gustav Fischer Verlag, 1995. p. 291-303.

DOSSA, D.; FUCHS, F. Tomate: análise técnico-econômica e os principais indicadores da produção nos mercados mundial, brasileiro e paranaense. **Curitiba-PR: Ceasa-PR**, 2017.

FAO. **Production of bananas**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>> Acesso em: 10 abril 2019.

FERNÁNDES-ORTUÑO, D.; TORES, J. A.; VICENTE, A.; PÉREZ-GARCÍA, A. The QoI fungicides, their rise and fall of a successful class of agricultural fungicides. In: CARRISE, O. (Org.). **Fungicides**, 203- 220, 2010.

FISCHER, I. H.; MORAES, M. F.; PALHARINI, M. C. A.; CRUZ, J. C. S.; FIRMINO, A. C. Ocorrência de antracnose em abacate, agressividade e sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Campina Grande, v. 13, n. 2, p. 130-137, 2017.

FRAC - Fungicide Resistance Action Committee. **List of plant pathogenic organisms resistant to disease control agents**. Disponível em: <<http://www.frac.info/frac/index.htm>>. Acesso em: 30 março de 2019.

FRAC- Fungicide Resistance Action Committee. FRAC Code List © 2019: **Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action (including FRAC Code numbering)**. Disponível em: <<http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2019.pdf>>. Acesso em: 07 julho 2019.

GANGA, R.M.D. Resultados parciais sobre o comportamento de seis cultivares de banana (*Musa* spp.) em Jaboticabal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17, 2002, Belém. **Anais...** Belém Embrapa/DDT, 2002.

GEO-MEXICO 2013. **Mexico's seven climate regions**. Disponível em: <<http://geo-mexico.com/?p=9512>>. Acesso em 01 de julho 2019.

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

GRIFFEE, P. J. *et al.* Resistance to benomyl and related fungicides in *Colletotrichum musae*. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 60, n. 3, p. 433-439, 1973.

GULART, C. A. **Sensibilidade in vitro e in vivo de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magn.) Briosi & Cav., a fungicidas sistêmicos**. 2009. 63f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

HAWKINS, N. J.; FRAAIJE, B. A. Fitness penalties in the evolution of fungicide resistance. **Annual review of phytopathology**, Palo Alto, v. 56, p. 339-360, 2018.

- HU, M. J.; GRABKE, A.; DOWLING, M. E.; HOLSTEIN, H. J.; SCHNABEL, G. Resistance in *Colletotrichum siamense* from peach and blueberry to thiophanate-methyl and azoxystrobin. **Plant disease**, Saint Paul, v. 99, n. 6, p. 806-814, 2015.
- ISHII, H. Resistance of *Venturia nashicola* to benzimidazoles and sterol demethylation inhibitors. In: THIND, T. S. (ed) Fungicide resistance in crop protection. **CAB International**, Wallingford, 2011, p. 21–31.
- ISHII, H.; HOLLOMON, D. W. Fungicide resistance in plant pathogens principles and a guide to practical management. 2015. (E-BOOK).
- JEGER, M.J.; EDEN-GREEN S.; THRESH J.M.; JOHANSON A.; WALLER J.M.; BROWN A.E. Banana disease. In: GOWEN, S. (Ed.). **Bananas and plantains**. London: Chapman & Hall, 1995. p.317-381.
- KARAOGLANIDIS, G. S.; THANASSOULOPOULOS, C. C.; IOANNIDIS, P. M. Fitness of *Cercospora beticola* field isolates resistant and sensitive to demethylation inhibitor fungicides. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, n. 3, p. 337-347, 2001.
- KIM, Y. K.; XIAO, C. L. Stability and fitness of pyraclostrobin- and boscalid resistant phenotypes in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 101, n. 11, p.1385-1391, 2011.
- KIM, Y. S.; MIN, J. Y.; KANG, B. K.; VAN BACH, N.; CHOI, W. B.; PARK, E. W.; KIM, H. T. Analyses of the less benzimidazole-sensitivity of the isolates of *Colletotrichum* spp. causing the anthracnose in pepper and strawberry. **The Plant Pathology Journal**, Seoul, v. 23, n. 3, p. 187-192, 2007.
- KOENRAADT, H.; JONES, A. L. Resistance to benomyl conferred by mutations in codon 198 or 200 of the beta-tubulin gene of *Neurospora crassa* and sensitivity to diethofencarb conferred by codon 198. **Phytopathology**, Saint Paul, n.83, p. 850–854, 1998.
- KUMAR, V. S. N.; NAIR, B. A.; NAIR, P. V.; ANNAMALAI, A.; JAISHANKER, R.; UMAMAHESWARAN, K.; SOORAJ, N. P.; PEETHAMBARAN, C. K. First report of *Colletotrichum siamense* causing anthracnose of Cliff Banana in India. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 2, p. 390-390, 2017.
- LEADBEATER, A. Resistance risk to QoI fungicides and anti-resistance strategies. In: THIND, T. S. (Ed.). Fungicide resistance in crop protection: risk and management. p.141-154. CABI, 2011.
- LEUROX, P.; WALKER, A. S. Multiple mechanisms account for resistance to sterol 14 α -demethylation inhibitors in field isolated of *Mycosphaerella graminicola*. **Pest Management Science**, Sussex, v.67, n.1, p. 44-59, 2011.
- LICHTEMBERG, P. S.; MICHAILIDES, T. J. PUCKETT, R. D.; ZEVIANI, W. M.; MAY-DE-MIO, L. L. Fitness costs associated with G461S mutants of *Monilinia fructicola* could favor the management of tebuconazole resistance in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, n. 40858, p. 1-11, 2018.
- LIMA, L.C.; CASTRO, M.V. de; DIAS, M.S. de C.; MARTINS, R.M.; SILVA, D.F.; COSTA, S.; RIBEIRO JUNIOR, P.M.; BRESINSKI, T.L. Conservação pós-colheita de banana Prata Anã produzida na região de Minas Gerais. In: SIMPÓSIO NORTE MINEIRO SOBRE A CULTURA DA BANANA, 1., 2001, Nova Porteirinha. **Anais...** Nova Porteirinha: Epamig, 2001. p.272-274.
- MA, Z.; MICHALIDES, T. J. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. **Crop Protection**, Guildford, n. 24, p. 853–863, 2005.
- MAFIA, R.G.; ALFENAS A.C.; LOOS.R.A. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre doenças no eucalipto cultura no Brasil. In: GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W. **Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil**. São Paulo: Embrapa Meio Ambiente, 2011. p.213-225.
- MARINGONI, A. C.; BARROS, E. M. Ocorrência de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* resistentes a fungicidas benzimidazóis. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, n.28, v. 2, 197-200, 2002.
- McKAY, G. J.; COOK, L. R. A PCR – based method to characterize and identify benzimidazole resistance in *Helminthosporium solani*. **Microbiology Letters**, Amsterdam, n. 152, p. 371-378, 1997.

MENA-ESPINO, XENIA; COUOH-UICAB, Y. E. N. I. Efectos de los plaguicidas utilizados para el control de la Sigatoka negra en plantaciones bananeras en México, así como su efecto en el ambiente y la salud pública. **Tecnociencia Chihuahua**, Chihuahua, v. 9, n. 2, p. 91-98, 2015.

MIIN-HUEY, L.; SHIAH-MEI, P.; TIENG-WUI, N.G.; PO-SHENG, C.; LI-YUAN, W.; KUANG-REN, C. Mutations of β -tubulin codon 198 or 200 indicate thiabendazole resistance among isolates of *Penicillium digitatum* collected from citrus in Taiwan. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 150, p. 157–163, 2011.

MIRSHEKARI, A.; DING, P.; KADIR, J.; GHAZALI, H.M. Effect of hot water dip treatment on postharvest anthracnose of banana var. Berangan. **African Journal of Agricultural Research**, Nigéria, v.7, n.1, p. 6-10, 2012.

NAKAUNE, R.; NAKANO, M. Benomyl resistance of *Colletotrichum acutatum* is caused by enhanced expression of β -tubulin 1 gene regulated by putative leucine zipper protein CaBEN1. **Fungal Genetics and Biology**, San Diego, v. 44, p. 1324-1335, 2007.

OLIVEIRA, C. A.; SOUZA, E.; POZZA, E.A.; PINTO, J.E.B.P.; BARRETTI, P.B. Efeito de variáveis ambientais, épocas e métodos de plantio na intensidade da seca da haste (*Botrytis cinerea*) em *Hibiscus sabdariffa*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.37, n.2, p.101-106, 2011.

OLIVEIRA, H. S. **Comportamento de cultivares de bananeira (*Musa* spp.) resistentes a doenças no processo de micropropagação**. 2010. 80f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal Rural do Amazonas, Bélem.

PENG, M. T.; HUANG, C. T.; CHUNG, W. H. Sensitivity and resistance of mango anthracnose fungi to QoIs (Strobilurin) and benzimidazoles in Taiwan. **Plant Pathology Bulletin**, Ontario, v. 17 p. 99, 2007.

PEREIRA, A. V. S.; MARTINS, R. B.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, M. B.; CAMARA, M. P. S. Sensitivity of *Lasiodiplodia theobromae* from Brazilian papaya orchards to MBC and DMI fungicides. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, n.132, 489–498, 2012.

PERES, N. A. R.; SOUZA, N. L.; PEEVER, T. L.; TIMMER, L. W. Benomyl sensitivity of isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from citrus. **Plant Disease**, Saint Paul, n. 88, p.125-130, 2004.

PERES, N.A.R.; KURAMAE, E.E.; DIAS, M.S. de C.; SOUZA, N.L. de. Identification e characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Oxford, v.150, p.128-134, 2002.

PICININI, E. C. Fungicidas benzimidazoles. **Revisão anual de patologia de plantas**, Passo Fundo, v. 2, p. 357-409, 1994.

PLOETZ, R.C.; THOMAS, J.E.; SLABAUGH, W.R. Diseases of banana and plantain. In: PLOETZ, R.C. (Ed.). **Diseases of tropical fruit crops**. Wallingford: Centre for Agriculture and Biosciences International, 2003. p.73-134.

RALLOS, L. E. E. *et al.* Fitness of *Erysiphe necator* with G143A-based resistance to quinone outside inhibitors. **Plant disease**, Saint Paul, v. 98, n. 11, p. 1494-1502, 2014.

RAMDIAL, H.; HOSEIN, F. N.; RAMPERSAD, S. N. Detection and molecular characterization of benzimidazole resistance among *Colletotrichum truncatum* isolates infecting bell pepper in Trinidad. **Plant disease**, Saint Paul, v. 100, n. 6, p. 1146-1152, 2016.

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**, Guildford, v. 21, n. 10, p. 951-955, 2002.

RUSSELL, P. E. 2002. **Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management**. FRAC Monogr. No. 3. Fungicide Resistance Action Committee. Disponível em <<http://www.frac.info/>>. Acesso: 03 jan 2019.

SAGARPA – Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y alimentación. **Producción de plátano “hecho em México” aumenta siete por ciento.** Disponível em: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/Paginas/JAC_0080_28.aspx#>. Acesso:15 março 2019.

SALOMÃO, L.C.C.; SIQUEIRA, D. E. L. **Cultivo de bananeira.** – Viçosa, MG: Ed. UFV, 2015, 109 p.

SANTOS, K. M.; TSUJI, S. S.; CAMARA, M. P. S.; MICHEREFF, S. M.; LOPES, U. P. Sensitivity to methyl benzimidazole carbamate fungicides of *Botryosphaeriaceae* species from mango orchards in the Northeast of Brazil. **European Journal Plant Pathology**, Dordrecht, v. 15, p. 209–222, 2019.

SIAP – Serviço de Informações sobre alimentos e pescas agrícolas. Pronto China consumirá plátano mexicano - Disponível em:< <https://www.gob.mx/senasica/articulos/pronto-china-consumira-platano-mexicano>>. Acesso em 05 julho 2019.

SILVA JUNIOR, G.; BEHLAU, F. Controle químico. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Princípios e Conceitos.** Ceres, 2018, Minas Gerais, p. 259.

SILVA, L. M.; BARBOSA, M. G.; FERNANDES, M. B.; RIBEIRO, R. C. F.; MIZOBUTSI, E. H. Progresso temporal e controle da antracnose em banana no semiárido norte mineiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.38, n.1, p. 81-91, 2016.

SILVA, L.; BARBOSA, M. G.; FERNANDES, M. B.; RIBEIRO, R. C.; MIZOBUTSI, E. Temporal Progress and control of anthracnose on banana in semiarid in the north of Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 38, n. 1, p. 81-91, 2016.

SIMÃO, S. **Tratado de fruticultura.** Piracicaba: Fealq, 1998.

TATAGIBA, J. S.; LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; COSTA, H. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 186-192, 2002.

TORRES-CALZADA, C.; TAPIA-TUSSEL, R.; HIGUERA-CIAPARA, I.; MARTÍN-MEX, R.; NEXTICAPAN-GARCEZ, A.; PÉREZ-BRITO, D. Sensitivity of *Colletotrichum truncatum* to four fungicides and characterization of thiabendazole-resistant isolates. **Plant disease**, Saint Paul, v. 99, n. 11, p. 1590-1595, 2015.

VIEIRA JUNIOR, J.R. FERNANDES, C.F.; RODRIGUES, V.G.S.; BENTES-GAMA, M.M.; SILVA, D.S.G.; FERNANDES, S.R.; DIOCLESIANO, J.M. **Avaliação da severidade da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) em cafeeiros (*Coffea canephora*) cultivados em condições de sombreamento.** Porto Velho: Embrapa, 2008. 4 p. (Circular Técnica, 103).

VIEIRA, W. A. S.; LIMA, W. G.; NASCIMENTO, E. S.; MICHEREFF, S. J.; CAMARA, M. P. S.; DOYLE, V. P. The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with *Musa*. **Mycologia**, New York, v. 109, n. 6, p. 912-934, 2018.

VIEIRA, W. A. S.; LIMA, W. G.; NASCIMENTO, E. S.; MICHEREFF, S. J.; REIS, A.; DOYLE, V. P.; CAMARA, M. P. S. Thiophanate-methyl resistance and fitness components of *Colletotrichum musae* isolates from banana in Brazil. **Plant disease**, Saint Paul, v. 101, n. 9, p. 1659-1665, 2017.

WALKER, A. S.; MICOUD, A.; RÉMUSON, F.; GROSMAN, J.; GREDET, M.; LEROUX, P. French vineyards provide information that opens ways for effective resistance management of *Botrytis cinerea* (grey mould). **Pest Management Science**, Sussex, v. 69, n. 6, p. 667-678, 2013.

WONG, F. P.; de la CERDA, K. A.; HERNANDEZ-MARTINEZ, R.; MIDLAND, S., L. Detection and characterization of benzimidazole resistance in California populations of *Colletotrichum cereale*. **Plant disease**, Saint Paul, v. 92, n. 2, p. 239-246, 2008.

ZAKARIA, L.; SAHAK, S.; ZAKARIA, M.; SALLEH, B. Characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose of banana. **Tropical Life Sciences Research**, Kedah, v. 20, p.119-125, 2009.

ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, W. S.; OLIVEIRA, S. H. F. Manejo da resistência de fungos a fungicidas. **Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora**, v. 168, 2007.

ZHOU, Y.; HUANG, J. S; YANG, L. Y; WANG, G. F.; LI, J. Q. First report of banana anthracnose caused by *Colletotrichum scovillei* in China. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 2, p. 381, 2017.

CAPÍTULO II

Isolados de *Colletotrichum musae* obtidos da principal área de cultivo de banana do México mostraram variações na sensibilidade a fungicidas metil benzimidazol carbamatos

Submissão: **Plant Disease**

Saint Paul, Estados Unidos da América

Qualis CAPES (Ciências Agrárias I) = A1

1 **Isolados de *Colletotrichum musae* obtidos da principal área de cultivo de banana do**
2 **México mostraram variações na sensibilidade a fungicidas metil benzimidazol**
3 **carbamatos**

4
5 Ana G. G. Amaral¹, Luciano Martínez-Bolaños², Sami J. Michereff³, Ueder P. Lopes⁴.

6
7 ¹Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE;

8 ²Tropical Plant Pathology, Universidad Autónoma Chapingo, Tabasco, México;

9 ³Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade, Universidade Federal do Cariri, Crato, PE;

10 ⁴Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns,
11 PE.

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

Resumo

33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66

A antracnose causada por *Colletotrichum musae*, é uma das principais doenças em pós-colheita da cultura da banana, e está presente na principal região produtora do México. Uma das principais medidas de manejo consiste no uso de fungicidas do grupo benzimidazol, sendo esse considerado de alto risco para resistência. Diante disso, foi avaliado a sensibilidade de 45 isolados aos fungicidas carbendazim, tiofanato metílico, tiabendazol e benomil a partir da estimativa da concentração de fungicida efetiva capaz de inibir 50% do crescimento micelial (CE₅₀). Cinco isolados sensíveis (S) e cinco menos sensíveis (MS) a esses fungicidas foram selecionados e avaliados quanto estabilidade de sensibilidade, eficiência de controle da doença em frutos, componentes de adaptabilidade e habilidade competitiva. Os valores de CE₅₀ variaram de 1,9 a 158,9 µg i.a. mL⁻¹ para carbendazim, de 0,07 a 162,9 µg i.a. mL⁻¹ para tiofanato metílico, de 0,06 a 12,71 µg i.a. mL⁻¹ para tiabendazol, e de 0,007 a 54,5 µg i.a. mL⁻¹ para benomil. Os isolados S e MS aos fungicidas mantiveram os níveis de sensibilidade após dez gerações. Todos os fungicidas foram eficazes em controlar a doença causada pelos isolados em frutos inoculados, entretanto, maior eficiência foi constada para isolados S. Não foi constada diferença significativa (P<0,05) entre os componentes de adaptabilidade avaliados para os isolados testados. Isolados MS foram mais competitivos que os sensíveis em todas as proporções avaliadas, predominando na competição *in vitro* e *in vivo*. Mutação foi detectada no códon 200 do gene da β-tubulina para o isolado MS CMM-3483. Os resultados apontam a presença de indivíduos menos sensíveis e com boa capacidade competitiva, sendo necessário monitoramento constante das populações a fim de auxiliar na implementação de medidas visando um manejo eficiente da antracnose nas regiões produtoras de banana do México.

Palavras-chave: Antracnose, banana, benzimidazóis, *Musa* spp.

67 **Introdução**

68 A produção de banana, *Musa* spp., possui grande importância no México, com uma
69 produção de 2,2 toneladas em 2017, em uma área cultivada de aproximadamente 80 mil
70 hectares. Embora a banana seja cultivada em 16 estados do país, o principal polo de produção
71 abrange os estados de Chiapas e Tabasco, com mais de 50% da produção nacional. A
72 bananicultura apresenta-se em constante crescimento no país, cuja produção nos anos de 2013
73 a 2016 cresceu em 270 mil toneladas, o que representa um aumento de 12,9% em quatro anos
74 (Fao, 2017; Sagarpa, 2017).

75 Durante o seu desenvolvimento, diversas doenças afetam a cultura da banana, levando
76 à redução da produtividade e qualidade do fruto. Dentre as doenças em pós-colheita, a
77 antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum musae* (Berk. and M. A. Curtis) Von Arx, é a
78 mais importante, podendo levar a perdas de até 40% na produção (Cordeiro *et al.* 2004;
79 Pessoa; Fernández-Paiva *et al.* 2015; Oliveira, 2006).

80 A doença é caracterizada pela formação de lesões deprimidas no fruto, de coloração
81 escura e delimitada por uma margem de coloração clara nos tecidos sadios. Em condições de
82 alta umidade, as lesões são cobertas por uma frutificação rósea, que corresponde aos
83 acérvulos do fungo. Comumente, a polpa da fruta não é afetada, exceto na presença de altas
84 temperaturas ou quando o ponto de maturação ótimo é ultrapassado (Cordeiro *et al.* 2016).

85 Para manejo da doença, podem ser implementadas medidas de controle no campo e em
86 pós-colheita. No México, a principal medida de controle consiste no uso de fungicidas dos
87 grupos Metil Benzimidazol Carbamato (MBC) e Inibidores da Quinona Externa (*Quinone*
88 *outside Inhibitor* - QoI). Dentre os fungicidas pertencentes ao grupo MBC, estão
89 carbendazim, tiofanato-metílico, tiabendazol, fuberidazol e benomil (Frac, 2016; Ishii,
90 Hollomon, 2015). Os MBCs são amplamente utilizados nos campos de cultivo do México,
91 não apenas para o controle da antracnose, mas também para controle da sigatoka negra
92 (*Mycosphaerella fijiensis*) que encontra-se presente nos plantios de banana no país (Espino;
93 Couoh, 2015; Rojo-Báez *et al.* 2017). Isso pode estar relacionado à falta de atualização na
94 regulamentação e monitoramento contínuo do uso de produtos químicos no país, e à falta de
95 políticas de gestão dos órgãos responsáveis (Gutierrez-Alonso *et al.* 2004; Pérez *et al.* 2013).

96 Os MBCs apresentam ação sistêmica na planta e se caracterizam por uma alta
97 seletividade, atuando na divisão celular, especificamente inibindo a montagem das fibras de
98 β -tubulina ou estabilizando os microtúbulos e impedindo a sua desmontagem, interferindo na
99 forma da célula e na mitose (Aguayo-Ortiz *et al.* 2013; Young, 2015). Devido a essa
100 especificidade, este grupo é considerado de alto risco para o surgimento de resistência, o que

101 já foi relatado em mais de 150 espécies de fungos (FRAC, 2016). Além disso, a resistência
102 cruzada entre fungicidas MBC é muito comum e, em alguns casos, os mutantes resistentes
103 tendem a persistir na população, mesmo na ausência do fungicida (Ishii, 2015; Walker *et al.*
104 2003).

105 Para o gênero *Colletotrichum*, existem diversos relatos de resistência aos fungicidas
106 MBC (Chung *et al.* 2010; Hu *et al.* 2015; Peres *et al.* 2004; Ramdial *et al.* 2016; Torres-
107 Calzada *et al.* 2015; Wong *et al.* 2007). Esta resistência tem sido associada à uma mutação
108 pontual no gene β -tubulina, que leva a uma substituição no códon 198 (de GCG por GAG) ou
109 no códon 200 (de TAC por TTC) (Chung *et al.* 2010). Diversos estudos têm relatado a
110 resistência a fungicidas MBCs em populações de *C. musae* da França (Bellaire e Dubois
111 1997), Cabo Verde (Griffe, 1973); Caribe (Hostachy *et al.* 1990), Brasil (Vieira *et al.* 2017) e
112 detectado mutação no códon 200 do gene β -tubulina (Vieira *et al.* 2017).

113 Mutações associadas à resistência podem influenciar diretamente a adaptabilidade de
114 isolados em uma população. Embora os fungicidas possam exercer uma pressão seletiva
115 muito forte em favor da resistência, essa vantagem seletiva pode ser compensada pelos custos
116 de adaptação. As penalidades na adaptabilidade podem reduzir a vantagem seletiva geral da
117 resistência sob tratamento com fungicida, porém, mais significativamente, podem levar a
118 reversões da evolução da resistência (Allen *et al.* 2017; Hawkis; Fraaije, 2018; Van de boschet
119 *al.* 2014). Embora já tenha sido relatada a resistência em *C. musae*, penalidades adaptativas
120 não têm sido verificadas nos isolados com sensibilidade reduzida aos fungicidas (Vieira *et al.*
121 2017).

122 Informações sobre a sensibilidade a fungicidas MBC em populações de *C. musae*
123 provenientes da principal área de cultivo do México são ainda ausentes. Estas informações
124 são importantes para um melhor direcionamento de estratégias de manejo, maximizando a
125 eficiência no uso de fungicidas. Diante do exposto, este trabalho teve por objetivos: i)
126 caracterizar a sensibilidade de isolados de *C. musae* provenientes do México aos fungicidas
127 carbendazim, tiofanato-metílico, tiabendazol e benomil; ii) avaliar a relação entre a
128 sensibilidade dos isolados aos quatro fungicidas; iii) avaliar a estabilidade da sensibilidade
129 aos fungicidas em isolados sensíveis (S) e menos sensíveis (MS); iv) avaliar a eficácia dos
130 fungicidas no controle de isolados S e MS inoculados em frutos de banana; v) avaliar a
131 habilidade competitiva entre isolados S e MS *in vitro* e *in vivo*; vi) verificar a relação entre
132 sensibilidade e variáveis relacionadas à adaptabilidade dos isolados; vii) caracterizar o
133 mecanismo associado à menor sensibilidade aos fungicidas MBCs.

134

135 **Materiais e métodos**

136 **Origem dos isolados**

137 Foram utilizados 45 isolados de *C. musae* provenientes das principais áreas de cultivo
138 de banana do México (Figura 1). Estes isolados estão depositados na Coleção de Cultura de
139 Fungos Fitopatogênicos “Professora Maria Menezes” (CMM) da Universidade Federal Rural
140 de Pernambuco (Recife, Pernambuco, Brasil), e foram previamente caracterizados por
141 inferência filogenética (dados não publicados).

142

143 **Sensibilidade dos isolados aos fungicidas**

144 Para o ensaio de sensibilidade, foram utilizados os fungicidas Derosal 500 SP
145 (carbendazim 500 g/L de ingrediente ativo - i.a.), Cercobin 700 WP (tiofanato-metílico 700
146 g/kg de i.a.), Tecto SC (tiabendazol 485 g/L de i.a.) e Benlati 500 (benomil 500 g/kg de i.a.),
147 que foram dissolvidos em água destilada esterilizada (ADE) para preparo da solução estoque.
148 Em seguida, foi realizada uma diluição em série, para obter as diferentes concentrações: 0,05;
149 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50; 100; 200; e 500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Um volume de 300 μL do fungicida foi
150 adicionado em 300 mL de meio batata dextrose ágar (BDA) fundente (45 °C), que foi vertido
151 em placas de Petri. Discos de micélio (5 mm de diâmetro) foram retirados da margem de
152 culturas com cinco dias de idade e transferidos para o centro de placas de Petri contendo BDA
153 suplementado com diferentes concentrações de fungicida. Como testemunha, foram utilizadas
154 placas de Petri contendo BDA sem fungicida. O experimento foi instalado em delineamento
155 inteiramente casualizado (DIC), com três repetições (placas) para cada concentração de
156 fungicida.

157 Após 72 h de incubação a 25°C no escuro, foi realizada a mensuração do crescimento
158 radial (diâmetro) de cada colônia, em duas direções perpendiculares, com auxílio de um
159 paquímetro digital. Para calcular o crescimento micelial, foi subtraído o diâmetro original do
160 disco de micélio (5 mm). A porcentagem de inibição do crescimento micelial (ICM) foi
161 calculada para todas as concentrações do fungicida, utilizando a fórmula $\text{ICM} = [(T - F)/T] \times 100$, onde T é o diâmetro da colônia da testemunha (sem fungicida) e F é o diâmetro da
162 colônia para o tratamento com o fungicida. A concentração efetiva capaz de inibir 50% do
163 crescimento micelial (CE_{50}) foi estimada por regressão linear da proporção de inibição versus
164 \log^{10} da concentração de i.a. para todos os fungicidas e suas concentrações.

166 Distribuições de frequência dos isolados entre os intervalos de valores de CE_{50} foram
167 estabelecidas, e os isolados foram agrupados de acordo com o grau de sensibilidade aos
168 fungicidas. Os cinco isolados com os menores e os maiores valores de CE_{50} foram

169 selecionados e denominados como “sensíveis” (S) e “menos sensíveis” (MS),
170 respectivamente, e posteriormente utilizados nos testes de adaptabilidade.

171

172 **Estabilidade da sensibilidade**

173 A sensibilidade dos isolados foi estimada antes do início das repicagens (T_0) e após dez
174 repicagens sucessivas (T_{10}), com intervalo de três dias. Ao fim das dez repicagens, foi
175 realizada a avaliação do crescimento micelial em meio BDA com fungicida, e estimados os
176 valores de CE_{50} , conforme descrito anteriormente. Os valores obtidos no T_0 e T_{10} foram
177 comparados, a fim de verificar a estabilidade da sensibilidade.

178

179 **Eficiência de controle dos fungicidas em frutos de banana infectados por isolados S e MS**

180 Para avaliar a eficiência dos fungicidas MBC no controle da doença causada por
181 isolados de *C. musae* S e MS, foi realizado um experimento em DIC, com seis repetições,
182 sendo cada repetição constituída por quatro frutos. Foi realizado um experimento para cada
183 fungicida. Para isso, frutos de banana (cv. Prata) no estágio quatro de maturação, foram
184 lavados em água corrente e desinfestados com detergente, lavados com água destilada,
185 imersos em hipoclorito de sódio a 1% por 5 min e lavados por duas vezes com água destilada.
186 Os frutos foram colocados em bandejas de plástico sobre papel toalha esterilizado até secar.
187 Após a secagem, dois discos de 5×2 mm (diâmetro x profundidade), com distância
188 aproximada de 10 cm entre si, foram retirados da superfície dos frutos, usando um furador.
189 Três horas antes da inoculação, os frutos foram pulverizados com os fungicidas, na dose
190 comercial, até o ponto de escorrimento. Como testemunha, foram utilizados frutos
191 pulverizados com água destilada esterelizada. Em seguida, no local onde os discos foram
192 retirados do fruto, foram colocados discos de micélio de mesma dimensão, obtidos da margem
193 de culturas de cinco dias de idade, crescidas em meio BDA, dos cinco isolados S e MS.

194 Após a inoculação, os frutos foram colocados em bandejas de plástico, forradas com
195 folhas de papel toalha umedecido e cobertas com sacos plásticos, para manter a umidade
196 relativa próxima a 100%. Os frutos foram mantidos a 30 °C no escuro, por 24 h. Após esse
197 período, as folhas de papel toalha e os sacos plásticos foram retirados, e as bandejas foram
198 mantidas à mesma temperatura por um período de 48 h. Foi realizada a mensuração do
199 diâmetro da lesão nas duas direções perpendiculares, utilizando um paquímetro digital.

200

201

202

203 **Componentes de adaptabilidade de isolados S e MS**

204 Foi realizada a comparação dos componentes de adaptabilidade entre os cinco isolados
205 de *C. musae* S e MS a cada um dos quatro fungicidas. As variáveis avaliadas foram taxa de
206 crescimento micelial, produção e germinação de conídios, e virulência.

207 Para avaliar a taxa de crescimento micelial (TCM), discos de micélio (5 mm de
208 diâmetro) de cada isolado foram removidos da margem de culturas com três dias de idade e
209 transferidos para o centro de placas de Petri contendo BDA. As placas foram mantidas no
210 escuro, a 25 °C. Para cada isolado, foram utilizadas cinco placas (repetições). O diâmetro das
211 colônias foi mensurado às 48 h após a incubação, em duas direções perpendiculares, sendo
212 obtida a média para calcular a TCM, em mm.

213 Para determinar a produção de conídios, colônias com sete dias de idade, crescidas em
214 meio BDA, foram lavadas com 20 mL de água destilada e a suspensão foi filtrada em dupla
215 camada de gaze esterilizada. A concentração de conídios na suspensão foi medida com o
216 auxílio de um hemancitômetro e expressa como número de conídios por mL de suspensão.
217 Após a medição, a concentração das suspensões foi ajustada para 1×10^6 conídios/mL, para
218 ser utilizada no ensaio de germinação de conídios.

219 Para avaliar a germinação, 50 µL da suspensão de conídios foram transferidos para
220 quatro pontos equidistantes em placas de Petri contendo meio ágar-água 2%. Cada gota foi
221 coberta com uma lamínula e as placas foram mantidas a 25 °C no escuro por 24 h. Para cada
222 isolado, foram utilizadas três placas (repetições). Foram avaliados 100 conídios por placa,
223 com auxílio de microscópio ótico. Foi considerado germinado o conídio apresentando tubo
224 germinativo com comprimento maior ou igual ao seu comprimento.

225 Para avaliar a virulência dos isolados S e MS, frutos de banana foram desinfestados
226 superficialmente e secos, conforme descrito anteriormente. Após a secagem, foi realizada a
227 perfuração da epiderme de cada fruto, com o auxílio de perfurador de frutos. Foram efetuados
228 dois ferimentos equidistantes, com aproximadamente 3 mm de profundidade. Discos de
229 micélio (5 mm de diâmetro) de cada isolado foram removidos da margem de cultura de cinco
230 dias de idade, crescida em BDA, e colocados sobre os ferimentos. Como controle, foram
231 usados discos de BDA. O experimento foi conduzido em DIC, com 10 tratamentos (isolados)
232 e cinco repetições (sendo quatro frutos por repetição).

233 Após a inoculação, os frutos foram colocados em bandejas de plástico contendo papel
234 toalha umedecido e cobertas com saco plástico para manter a umidade relativa em
235 aproximadamente 100%. As bandejas foram mantidas a 30 °C no escuro. Após 24 h, o sacos
236 plástico e o papel toalha foram removidos, e os frutos foram mantidos à mesma temperatura

237 por um período de 24 h. O diâmetro da lesão (DL) foi medido nas duas direções
238 perpendiculares, às 72 h após a inoculação.

239

240 **Ensaio de competição de conídios**

241 A capacidade competitiva entre isolados S e MS foi determinada por meio de
242 experimentos *in vitro* e *in vivo*, na ausência de fungicida. Seis isolados foram escolhidos, com
243 base nos valores de CE₅₀ e nas variáveis de adaptabilidade. A competição foi avaliada pela
244 combinação de um isolado S e um isolado MS. Um mesmo isolado S (CMM-3530) foi
245 utilizado em combinação com dois isolados MS (CMM-3483 e CMM-3493). Da mesma
246 forma, um mesmo isolado MS (CMM-3602) foi utilizado para competir com dois diferentes
247 isolados S (CMM-3522 e CMM-3622). Assim, foram analisadas quatro diferentes
248 combinações (C) de S e MS: C1 (CMM-3530 + CMM-3483), C2 (CMM-3530 + CMM-
249 3493), C3 (CMM-3522 + CMM-3602) e C4 (CMM-3622+ CMM-3602).

250 De cada isolado, foi obtida uma suspensão de conídios, a partir de cultura com sete
251 dias de idade, que foi ajustada para 1×10^6 conídios.mL⁻¹. Para cada combinação, foi obtida
252 uma mistura das suspensões nas proporções (%) S: MS de 30:70, 50:50 e 70:30. As
253 suspensões puras foram usadas como controle.

254 Para o ensaio *in vitro*, foi realizada a transferência de uma alíquota de 100 µL da
255 suspensão conidial mista para uma placa contendo BDA. As placas foram mantidas a 25 °C
256 por cinco dias. Seis transferências sucessivas foram realizadas, seguindo o mesmo
257 procedimento, sendo os conídios colhidos da colônia anterior, e adicionados a 5 mL de água
258 deionizada estéril. Desta suspensão, 100 µL foram utilizados para o ciclo de transferência
259 subsequente.

260 No ensaio *in vivo*, frutos de banana no estágio quatro de maturação foram
261 desinfestados em hipoclorito de sódio a 1%, feridos a 3 mm de profundidade e inoculados
262 com 20 µL de cada mistura, nas diferentes proporções. Os frutos foram colocados em
263 bandejas plásticas, e mantidos em câmara úmida por 24 h. Após esse período, as bandejas
264 foram mantidas à temperatura ambiente, por três dias. Os conídios foram raspados do centro
265 da lesão e suspensos em 2 mL de água destilada, sendo considerado como uma nova fonte de
266 inóculo. As inoculações posteriores foram realizadas utilizando o mesmo procedimento. Seis
267 ciclos de inoculação sucessivos foram realizados antes da avaliação final.

268 O ensaio de competição foi avaliado ao final de seis ciclos de crescimento, sendo
269 obtidos 15 conídios individuais de uma unidade experimental em ambos os ensaios *in vitro* e
270 *in vivo*, totalizando 90 conídios. Conídios únicos foram cultivados em meio BDA a 25 °C e

271 fotoperíodo de 12 h, por quatro dias. Foram utilizadas três placas para cada colônia
272 proveniente de um único conídio. Foi avaliado o crescimento micelial relativo na dose
273 discriminatória de $1\mu\text{g.mL}^{-1}$ para os fungicidas carbendazim, tiofanato-metílico e tiabendazol,
274 e $0,05\mu\text{g.mL}^{-1}$ para benomil, calculada de acordo com os critérios propostos por Lehner *et al.*
275 (2015), sendo estabelecida como a dose em que os isolados S cresceram menos de 25% em
276 relação ao tratamento controle, e em que isolados MS cresceram sem inibição, para cada
277 fungicida. Os isolados MS corresponderam àqueles cujo crescimento micelial foi igual ou
278 superior a 50% do tratamento controle (sem fungicida).

279

280 **Análise estatística**

281 Os dados de sensibilidade, estabilidade da sensibilidade, eficácia de controle em frutos
282 e componentes de adaptabilidade (taxa de crescimento micelial, produção e germinação de
283 conídios e virulência) em isolados S e MS foram analisadas pelo teste t-Student ($P = 0,05$). A
284 correlação entre os valores de sensibilidade aos diferentes fungicidas foi analisada pela
285 análise de correlação de Pearson ($P = 0,01$).

286 Todas as análises foram realizadas utilizando o software R (3.5.1) (The R Foundation
287 for Statistical Computing, Vienna, Austria) e as representações gráficas foram feitas no
288 software Sigma Plot 11.0 (Systat Software Inc., San Jose, California, USA).

289

290 **Análise molecular da insensibilidade a MBCs em *C. musae***

291 A fim de verificar a ocorrência de mutação nos códons 198 e 200 do gene da β -
292 tubulina, relacionada à insensibilidade a MBCs, foi realizado o sequenciamento dessa região
293 gênica para um isolado S (CMM-3522) e um isolado MS (CMM-3483). Os isolados foram
294 cultivados em meio BDA a 25 °C por sete dias. O micélio foi raspado do meio de cultura e
295 transferido para microtubos de 1,5 mL. Os tubos foram congelados e o micélio foi macerado
296 com um pistilo até a obtenção um pó fino. O DNA genômico foi extraído utilizando o kit
297 Wizard™ Genomic DNA Purification (Promega) seguindo as instruções do fabricante. O
298 DNA foi usado como molde para amplificação do fragmento, utilizando o conjunto de
299 *primers* T1 (5'-AACATGCGTGAGATTGTAAGT-3') e T22 (5'-
300 TCTGGATGTTGTTGGGAATCC-3') (O'Donnel e Cigelnik 1997). A reação de PCR foi
301 realizada utilizando o kit GoTaq™ G2 Colorless Master Mix (Promega), seguindo as
302 recomendações do fabricante. Os parâmetros de amplificação consistiram de: desnaturação
303 inicial por 5 min a 95 °C, seguido por 35 ciclos de 95 °C por 30 s, 53 °C por 30 s e 72 °C por 1
304 min; e uma extensão final a 72 °C por 10 min. Os produtos foram purificados com a enzima

305 ExoSAP-IT™ (GE Healthcare), seguindo as recomendações do fabricante, e então
306 sequenciados em ambas as direções pelo serviço de sequenciamento de DNA do laboratório
307 LABCEN/CCB da Universidade Federal de Pernambuco. As sequências nucleotídicas foram
308 montadas, alinhadas e analisadas com o software Molecular Evolutionary Genetics Analysis
309 (MEGA) versão 7.0 (MEGA, Pennsylvania State University, PA). A sequência de um isolado
310 resistente de *C. musae* (código GenBank KY7113651), contendo uma mutação no códon 200,
311 foi incluída no alinhamento. Uma sequência de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp.
312 *aeschynomenes* (GenBank código U14138.1) também foi incluída no alinhamento e usada
313 como referência para a atribuição de posições de códon para permitir a detecção de mutações
314 pontuais.

315

316 **Resultados**

317 **Sensibilidade dos isolados aos fungicidas**

318 Os isolados *C. musae* apresentaram sensibilidade diferencial aos quatro fungicidas
319 avaliados, com valores de CE_{50} variando de 0,007 a 2,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para a maioria dos isolados
320 (Figura 2). No entanto, alguns isolados apresentaram valores elevados de CE_{50} , atingindo
321 158,9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 162,9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 12,7 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 54,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para os fungicidas carbendazim,
322 tiofanato-metílico, tiabendazol e benomil, respectivamente.

323 Os valores estimados de CE_{50} para carbendazim variaram de 1,1 a 20,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ em
324 91,1% dos isolados e foram superiores a 20,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para 8,9% dos isolados (Figura 2A).
325 Para tiofanato-metílico, 2,2% dos isolados apresentaram valores inferiores a 0,1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$,
326 84,5% variaram de 0,1 a 1,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e 13,3% tiveram valores acima de 20,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Figura
327 2B). Para tiabendazol, 2,2% dos isolados tiveram valores inferiores a 0,1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 91,1%
328 variaram de 0,1 a 1,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e 6,7% variaram de 1,1 a 20,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Figura 2C). Para
329 benomil, 28,8% dos isolados apresentaram valores inferiores a 0,1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 57,8% variaram
330 de 0,1 a 1,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 2,2% variaram de 1,1 a 20,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e 11,2% tiveram valores acima
331 de 20,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Figura 2D).

332 A média dos valores de CE_{50} da população foi menor para tiabendazol (1,2 $\mu\text{g.mL}^{-1}$),
333 seguido por benomil (3,6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), tiofanato-metílico (10,1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e carbendazim (11,9
334 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Em média, a insensibilidade a carbendazim foi cerca de 10 vezes maior do que à
335 tiabendazol.

336 Os isolados foram agrupados de acordo com os extremos de sensibilidade, sendo
337 selecionados os cinco com os menores (isolados S) e com os maiores valores (isolados MS) de
338 CE_{50} para cada fungicida (Tabela 1). Para carbendazim, os valores de CE_{50} variaram de 1,9 a

339 2,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e de 8,0 a 158,9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para os isolados S e MS, respectivamente. Para
340 tiofanato-metílico, a variação foi de 0,07 a 0,18 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e de 40,6 a 162,9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para os
341 isolados S e MS, respectivamente. Para tiabendazol, os valores de CE_{50} variaram de 0,06 a
342 0,49 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e de 1,0 a 12,7 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para os isolados S e MS, respectivamente. Por fim, para
343 benomil, a variação foi de 0,007 a 0,08 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e de 21,5 a 54,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para os isolados S e
344 MS, respectivamente.

345 Houve uma correlação positiva ($P < 0,01$) entre a sensibilidade aos quatro fungicidas, o
346 que indica que os isolados apresentaram insensibilidade cruzada (Tabela 2).

347 Com relação à origem dos isolados, foi verificado que, no geral, isolados provenientes
348 de Chiapas apresentaram maior sensibilidade aos fungicidas, com valores de CE_{50} não
349 ultrapassando 12,8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Figura 3). Por outro lado, alguns isolados dos estados de Tabasco
350 e Oaxala apresentaram os maiores valores de CE_{50} , alcançando 162,9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 87,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$,
351 respectivamente.

352

353 **Estabilidade da sensibilidade**

354 Não houve alteração na sensibilidade dos isolados S e MS aos diferentes fungicidas,
355 após dez repicagens sucessivas em meio BDA sem fungicida ($P > 0,05$) (Tabela 3). Isso
356 demonstra que o nível de sensibilidade foi mantido após ciclos sucessivos de crescimento.

357

358 **Eficiência de controle dos fungicidas em frutos de banana infectados por isolados S e MS**

359 Os frutos de banana tratados com os fungicidas antes da inoculação com os isolados de
360 *C. musae* S e MS tiveram redução significativa da severidade da antracnose (diâmetro da
361 lesão), quando comparados aos frutos não tratados com os fungicidas ($P < 0,05$) (Tabela 4).
362 Embora tenha havido uma redução de mais de 50% da severidade da doença para todos os
363 isolados, os melhores resultados foram obtidos com os isolados sensíveis, os quais foram
364 facilmente controlados.

365 A aplicação de carbendazim reduziu a severidade da antracnose em 90,5% nos frutos
366 inoculados com isolados S e em 56,8% para os isolados MS. Com tiofanato-metílico, a
367 severidade foi reduzida em 75,5% para os isolados S e em 60,3% para os MS. A aplicação de
368 tiabendazol reduziu a severidade em 90,5% e em 56,8% para os isolados S e MS,
369 respectivamente. Para benomil, houve redução de 89,6% da severidade com os isolados S e de
370 61,5% com os MS.

371

372

373 **Componentes de adaptabilidade**

374 Não foi verificada diferença entre as médias das variáveis relacionadas à
375 adaptabilidade em grupos de isolados S e MS a todos os fungicidas ($P < 0,05$) (Figura 4). Com
376 relação à taxa de crescimento micelial, as médias variaram de 26,9 a 39,0 mm (Figura 4 A-D).
377 A produção de conídios variou de $3,5 \times 10^5$ a $10,8 \times 10^5$ conídios.mL⁻¹ (Figura 4 E-H), e a
378 porcentagem de germinação média foi de 24,3 a 45,5% (Figura 4 I-L). O diâmetro de lesão,
379 usado para estimar a virulência, variou de 7,0 a 21,5 mm (Figura 4 M-P). Porém, ao se
380 considerar os valores individuais destas variáveis, foi possível observar uma grande variação
381 entre os isolados de um mesmo grupo. Os valores variaram de 28,1 a 57,5 mm para
382 crescimento micelial, de $2,6 \times 10^5$ a $10,8 \times 10^5$ conídios.mL⁻¹ para produção de conídios, de 11,6
383 a 70,6% para germinação, e de 7,6 a 26,5 mm para virulência.

384 Com base nos valores de CE₅₀ e nas variáveis de adaptabilidade, seis isolados (três S e
385 três MS) foram selecionados para o ensaio de competição (Tabela 5).

386

387 **Habilidade competitiva dos isolados**

388 Para as quatro combinações avaliadas e para todos os fungicidas, houve
389 predominância dos isolados MS após seis gerações, com uma frequência de 100% para todas
390 as proporções de S:MS inicialmente utilizadas. Este resultado foi obtido em ambos os
391 experimentos *in vitro* e *in vivo*, indicando que os isolados MS são mais competitivos que os
392 isolados S.

393

394 **Deteção molecular da insensibilidade a MBCs em *C. musae***

395 A análise da sequência nucleotídica da região parcial do gene β -tubulina revelou que o
396 isolado CMM-3522, sensível aos fungicidas MBC, apresentou a mesma sequência nos códons
397 198, 199 e 200 de um isolado tipo de *C. musae* (número de acesso no GenBank KY7113651)
398 (Tabela 6). Por outro lado, o isolado CMM-3483 (MS) apresentou uma mutação pontual na
399 segunda posição do códon 200, havendo uma modificação de timina (T) para adenina (A).
400 Essa mutação resultou na substituição do aminoácido fenilalanina (TTC) por tirosina (TAC),
401 assim como verificado para um isolado insensível de *C. musae* (acesso no GenBank
402 KY711365).

403

404 **Discussão**

405 Este é o primeiro estudo sobre a sensibilidade de isolados de *C. musae* provenientes da
406 principal área de cultivo do México a fungicidas MBCs. Os isolados avaliados neste estudo

407 apresentaram variação da sensibilidade a um mesmo fungicida. Além disso, foi possível
408 observar diferentes níveis de sensibilidade dos isolados aos quatro fungicidas.

409 No geral, os isolados foram mais sensíveis ao fungicida tiabendazol, seguido por
410 benomil, tiofanato-metílico e carbendazim. A relação entre o valor médio de CE_{50} da
411 população para carbendazim e os demais fungicidas foi de 1,2, 3,3 e 9,9 vezes, para tiofanato-
412 metílico, benomil e tiabendazol, respectivamente. Resultados divergentes foram obtidos por
413 Chung *et al.* (2009) ao analisar isolados de *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* e constatar
414 maior sensibilidade a carbendazim e tiabendazol e menor sensibilidade para benomil e
415 tiofanato-metílico. Diversos estudos tem relatado diferença de sensibilidade de isolados aos
416 diferentes fungicidas MBCs, como para *Myrothecium roridum* (Silva *et al.* 2006) e *Botrytis*
417 *cinerea* (Douglas, 1997). Para um isolado de *C. musae*, obtido a partir de bananas
418 pulverizadas com benomil em pré-colheita, foi verificada a redução da sensibilidade a
419 benomil, tiabendazol e tiofanato-metílico, em concentrações de até $8.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Griffiee,
420 1973).

421 Neste estudo, o valor máximo de CE_{50} para tiabendazol ($12,7 \mu\text{g.mL}^{-1}$) foi cerca de
422 quatro vezes menor do que o observado para isolados de *C. musae* provenientes de áreas de
423 cultivo de banana na França (Bellaire e Dubois, 1997). Por outro lado, o valor máximo de
424 CE_{50} para tiofanato-metílico ($162,9 \mu\text{g.mL}^{-1}$) foi três vezes maior ao relatado para uma
425 população de *C. musae* proveniente de área de cultivo de banana no Brasil (Vieira *et al.*
426 2017).

427 As maiores médias de CE_{50} para os quatro fungicidas foram obtidas para isolados
428 provenientes dos estados de Oaxaca e Tabasco. Estes estados se destacam por serem os
429 principais produtores de banana do México e estão entre os que mais utilizam fungicidas no
430 país (Albert, 2005). Portanto, embora o histórico de aplicação de fungicidas nestas áreas seja
431 desconhecido, é provável que os isolados sejam constantemente expostos aos fungicidas, o
432 que pode acarretar em perda de eficácia de controle.

433 Embora tenha sido observada uma correlação positiva entre a sensibilidade aos
434 fungicidas carbendazim, tiofanato-metílico, tiabendazol e benomil para os isolados de *C.*
435 *musae*, esta relação não foi tão alta como esperado em casos de uma resistência cruzada. Este
436 fenômeno foi observado em isolados de *C. gloesporioides*, com sensibilidade reduzida a estes
437 mesmos fungicidas (Chung *et al.* 2010; Gao *et al.* 2013). O mesmo foi relatado no estudo de
438 Peng *et al.* (2008), no qual isolados de *C. gloesporioides* resistentes a benomil foram também
439 resistentes a tiofanato-metílico e carbendazim. A ocorrência de resistência cruzada, ou seja,
440 ou seja, resistência a produtos com o mesmo modo de ação, é comum neste grupo de

441 fungicidas e ressalta a importância da rotação de fungicidas com diferentes modos de ação,
442 para maior eficiência no controle de doenças no campo.

443 A estabilidade da sensibilidade foi mantida para ambos os isolados S e MS, mesmo
444 após dez transferências sucessivas na ausência de fungicidas. Isso tem sido demonstrado em
445 outros estudos de sensibilidade envolvendo fungicidas do grupo MBC (Chen *et al.*, 2013;
446 Ishizaki *et al.* 1983; Santos *et al.* 2019), e traz um alerta já que isolados com sensibilidade
447 reduzida podem se manter na população após ciclos sucessivos, mesmo na ausência de
448 pressão de seleção do fungicida.

449 Apesar da sensibilidade reduzida dos isolados MS, os fungicidas ainda foram capazes
450 de reduzir a antracnose em frutos de banana inoculados. Porém, em frutos inoculados com
451 isolados S, o controle da doença foi mais efetivo. Estes resultados possuem implicação direta
452 no controle da antracnose, uma vez que a eficácia dos fungicidas é reduzida na presença de
453 isolados MS, o quais estão ocorrendo nas áreas de cultivo em Tabasco e Oaxaca.

454 Não foi observada diferença entre as médias dos grupos de isolados S e MS com
455 relação às variáveis de adaptabilidade. Porém, houve uma grande variação entre os isolados
456 dentro do mesmo grupo. Isso demonstra a importância de se considerar cada isolado
457 independentemente, de modo que nenhuma resposta seja ignorada. Apesar destas
458 considerações, estes resultados foram confirmados pelo ensaio de competição, no qual
459 isolados MS mostraram-se mais competitivos e predominaram sobre os isolados S, indicando
460 que não foram penalizados em adaptabilidade. Embora as variáveis de adaptabilidade de *C.*
461 *musae* já tenham sido estudadas (Vieira *et al.* 2018), este é o primeiro estudo onde se avaliou
462 a capacidade competitiva de isolados com sensibilidade reduzida a fungicidas MBCs.

463 Foi detectada uma mutação pontual no codón 200 do gene β -tubulina para um
464 isolado MS aos fungicidas. Essa mutação tem sido associada a uma resistência moderada a
465 MBCs em isolados de *C. musae* (Chung *et al.* 2006, 2010; Vieira *et al.* 2017) e *C.*
466 *gloeosporioides* (Chung *et al.* 2010). Outros estudos têm demonstrado a mutação no códon
467 198, relacionada à menor sensibilidade a MBCs para isolados de diferentes espécies, como
468 *C. cereale* (Wong *et al.* 2007), *C. gloeosporioides* f. sp. *Aeschynomene* (Burh, Dickman,
469 1994), *C. siamense* (Hu *et al.* 2015), e *C. truncatum* (Ramdial, Rampersad, 2016).

470 Neste estudo, foi demonstrado que a sensibilidade de isolados de *C. musae*
471 provenientes de áreas de cultivo de banana do México aos fungicidas carbendazim,
472 tiofanato-metílico, tiabendazol e benomil é variável e estável. Para todos os fungicidas,
473 foram encontrados isolados com sensibilidade reduzida, principalmente nos estados de
474 Tabasco e Oaxaca. Embora todos os fungicidas tenham sido capazes de reduzir a antracnose,

475 verificou-se uma redução na sua eficácia, principalmente para controlar a doença causada
476 por isolados MS. A mutação conferindo resistência ao isolado MS (CMM 3483) não resultou
477 em penalidade adaptativa, uma vez que este isolado apresentou boa capacidade competitiva.
478 Este resultado sugere que essas variantes podem aumentar em frequência na população,
479 mesmo com o uso descontinuado do fungicida, o que pode comprometer o sucesso de
480 controle da antracnose por meio do uso de fungicidas MBCs.

481 Portanto, o conhecimento sobre como os isolados são afetados após adquirir a
482 capacidade de resistir a um fungicida é fundamental para prever sua eficácia e otimizar
483 estratégias de controle de doenças. Os resultados obtidos neste estudo permitem uma melhor
484 compreensão da sensibilidade e adaptabilidade de isolados de *C. musae* provenientes da
485 principal área de cultivo do México aos fungicidas MBCs. Além disso, demonstram a
486 importância do monitoramento periódico para verificar a frequência de isolados MS nas
487 populações, visando à implementação de medidas para um manejo mais efetivo da
488 antracnose nas diferentes regiões produtoras de banana do México.

489

490 **Agradecimentos**

491 Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
492 Superior (CAPES) pelo apoio financeiro através da bolsa de mestrado.

493

494 **Referências Bibliográficas**

495 Aguayo-Ortiz, R., Méndez-Lucio, O., Medina-Franco, J. L., Castillo, R., Yépez-Mulia, L.,
496 Hernández-Luis, F., & Hernández-Campos, A. (2013). Towards the identification of the
497 binding site of benzimidazoles to β -tubulin of *Trichinella spiralis*: insights from
498 computational and experimental data. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, *41*, 12-
499 19.

500 Albert, L. A. (2005). Panorama de los plaguicidas en México. *Revista de Toxicología*, *22* (2),
501 1-17.

502 Allen, R. C., Engelstädter, J., Bonhoeffer, S., McDonald, B. A., & Hall, A. R. (2017).
503 Reversing resistance: different routes and common themes across pathogens. *Proceedings of*
504 *the Royal Society B: Biological Sciences*, *284*(1863), 20171619.

- 505 Bosch, F. V. D., Oliver, R., Berg, F. V. D., & Paveley, N. (2014). Governing principles can
506 guide fungicide-resistance management tactics. *Annual Review of Phytopathology*, *52*, 175-
507 195.
- 508 Buhr, T. L., & Dickman, M. B. (1994). Isolation, characterization, and expression of a second
509 beta-tubulin-encoding gene from *Colletotrichum gloeosporioides f. sp. aeschynomene*. *Appl.*
510 *Environ. Microbiol.*, *60* (11), 4155-4159.
- 511 Cao, X., Xu, X., Che, H., West, J. S., & Luo, D. (2017). Distribution and fungicide sensitivity
512 of *Colletotrichum* species complexes from rubber tree in Hainan, China. *Plant*
513 *disease*, *101*(10), 1774-1780.
- 514 Chen, F., Liu, X., & Schnabel, G. (2013). Field strains of *Monilinia fructicola* resistant to
515 both MBC and DMI fungicides isolated from stone fruit orchards in the eastern United
516 States. *Plant disease*, *97*(8), 1063-1068.
- 517 Chung, W. H., Ishii, H., Nishimura, K., Fukaya, M., Yano, K., & Kajitani, Y. (2006).
518 Fungicide sensitivity and phylogenetic relationship of anthracnose fungi isolated from various
519 fruit crops in Japan. *Plant Disease*, *90*(4), 506-512.
- 520 Chung, W. H., Chung, W. C., Ting, P. F., Ru, C. C., Huang, H. C., & Huang, J. W. (2009).
521 Nature of Resistance to Methyl Benzimidazole Carbamate Fungicides in *Fusarium oxysporum*
522 *f. sp. lilii* and *F. oxysporum f. sp. gladioli* in Taiwan. *Journal of phytopathology*, *157*(11-12),
523 742-747.
- 524 Chung, W. H., Chung, W. C., Peng, M. T., Yang, H. R., & Huang, J. W. (2010). Specific
525 detection of benzimidazole resistance in *Colletotrichum gloeosporioides* from fruit crops by
526 PCR-RFLP. *New biotechnology*, *27*(1), 17-24.
- 527 Cordeiro, Z. J. M. Doenças e nematoides. (1997). In: ALVES, E. J. *et al.* (Ed.). *Banana para*
528 *exportação: aspectos técnicos da produção*. (p. 69-86). Brasília: Embrapa-SPI.
- 529 Cordeiro, Z. J. M.; Matos, A. P.; Filho, P. E. M. (2004). Doenças e métodos de controle. In: O
530 cultivo da bananeira. BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. (p. 279). Cruz das Almas: Embrapa
531 Mandioca e Fruticultura.
- 532 Cordeiro, Z. J. M.; Matos, A. P.; Kimati, H. Doenças da Bananeira (2016). In: AMORIM, L.;
533 REZENDE, J. A. M.; CAMARGO, L. F. A. *Manual de Fitopatologia: doença das plantas*
534 *cultivadas*. (573p.). São Paulo: Agroquímica Ceres.

- 535 da Silva, J. C., Meyer, M. C., Coutinho, W. M., & Suassuna, N. D. (2006). Fungitoxicidade
536 de grupos químicos sobre *Myrothecium roridum* in vitro e sobre a mancha-de-mirotécio em
537 algodoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(5), 755-761.
- 538 da Silva Lopes, L. N., Silva, A. S., de Oliveira Pereira, C. C., de Menezes, I. P. P., Malafaia,
539 G., & da Paz-Lima, M. L. (2018). Sensibilidade de Isolados de *Colletotrichum*
540 *gloeosporioides* a Fungicidas. *Multi-Science Journal*, 1(1), 106-114.
- 541 De Lapeyre de Bellaire, L., & Dubois, C. (1997). Distribution of thiabendazole-resistant
542 *Colletotrichum musae* isolates from Guadeloupe banana plantations. *Plant disease*, 81(12),
543 1378-1383.
- 544 Delen, N., & Tosun, N. (2004). Fungicidas: modo de ação e resistência. *Revisão Anual de*
545 *Patologia de Plantas, Passo Fundo*, 12, 27-90.
- 546 Mena-Espino, X. E. N. I. A., & Couoh-Uicab, Y. E. N. I. (2015). Efectos de los plaguicidas
547 utilizados para el control de la Sigatoka negra en plantaciones bananeras en México, así como
548 su efecto en el ambiente y la salud pública. *Tecnociencia Chihuahua*, 9(2), 91-98.
- 549 Eckert, J. W., & Ogawa, J. M. (1985). The chemical control of postharvest diseases:
550 subtropical and tropical fruits. *Annual review of phytopathology*, 23(1), 421-454.
- 551 FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of de United Nations. Top production, Brasil,
552 2011. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site>>. Acesso em 11 de abril de 2018.
- 553 FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of de United Nations. Produção mundial de
554 bananas- Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em 17
555 de março de 2018.
- 556 Fernández-Pavía SP, Gregorio-Cipriano R, Rodríguez-Alvarado G, Fernández-Pavía L,
557 Mondragón FA, GómezDorantes N, Lozoya-Saldaña H, Rodríguez-Fernández R & Herrera
558 CJ.(2015). Enfermedades de especies vegetales en México. Primera edición. Morevalladolid.
559 Morelia, Michoacán, México. 425p.
- 560 Fischer, I., Moraes, M., Palharini, M., Cruz, J., & Firmino, A. (2017). Ocorrência de
561 antracnose em abacate, agressividade e sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* a
562 fungicidas. *Agropecuária Científica do Semiárido* 13(2), 130-137.
- 563 Forcelini, B. B., Rebello, C. S., Wang, N. Y., & Peres, N. A. (2018). Fitness, Competitive

- 564 Ability, and Mutation Stability of Isolates of *Colletotrichum acutatum* from Strawberry
565 Resistant to QoI Fungicides. *Phytopathology*, 108(4), 462-468.
- 566 FRAC. 2016. List of plant pathogenic organisms resistant to disease control agents.
567 Disponível em: <[http://www.frac.info/docs/default-source/publications/list-of-resistant-plant-](http://www.frac.info/docs/default-source/publications/list-of-resistant-plant-pathogens/list-of-resistant-plant-pathogenic-organisms_may-2018.pdf?sfvrsn=a2454b9a_2)
568 [pathogens/list-of-resistant-plant-pathogenic-organisms_may-2018.pdf?sfvrsn=a2454b9a_2](http://www.frac.info/docs/default-source/publications/list-of-resistant-plant-pathogens/list-of-resistant-plant-pathogenic-organisms_may-2018.pdf?sfvrsn=a2454b9a_2) >.
569 Acesso em: 13 jun 2018.
- 570 Gao, Z. Y., Zhang, Z. K., Yang, F. Z., Xie, Y. X., Hu, M. J., Yang, Y., & Li, M. (2010).
571 Screening and cross-resistance analysis of alternative fungicides against carbendazim-
572 resistant *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. from mango (*Mangifera indica* L.). In *IX*
573 *International Mango Symposium* 992 (pp. 415-421).
- 574 Ghini, R., & Kimati, H. (2000). *Resistência de fungos a fungicidas*. Jaguariúna: Embrapa
575 Meio Ambiente,
- 576 Griffee, P. J. (1973). Resistance to benomyl and related fungicides in *Colletotrichum*
577 *musae*. *Transactions of the British Mycological Society*, 60(3), 433-439.
- 578 Gutiérrez-Alonso JG, Gutiérrez-Alonso O, Nieto-Ángel D, Téliz-Ortiz D, Zavaleta-Mejía E &
579 Delgadillo-Sánchez F. (2004). Manejo integrado de la antracnosis [*Colletotrichum*
580 *gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc.] del mango (*Mangifera indica* L.) durante la
581 postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:395-402.
- 582 Gulart, C. A. (2009). Sensibilidade in vitro e in vivo de isolados de *Colletotrichum*
583 *lindemuthianum* (Sacc & Magn.) Briosi & Cav., a fungicidas sistêmicos.
- 584 Hamada, N. A., Katsurayama, Y., & Dantas, A. (2009). Sensibilidade “in vitro” ao benomyl
585 por isolados de *Colletotrichum* spp. associados à mancha da gala em macieira. *Tropical Plant*
586 *Pathology*, 34(5), 347-351.
- 587 Hawkins, N. J., & Fraaije, B. A. (2018). Fitness Penalties in the Evolution of Fungicide
588 Resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 56, 339-360.
- 589 Hostachy, B. Bananes de la Martinique: incidence des problemes fongiques sur la qualité.
590 Bananos de Martinica: incidencia de problemas fungicos sobre la calidad. *Phytoma*. (420):
591 37-43

- 592 Hu, M. J., Grabke, A., Dowling, M. E., Holstein, H. J., & Schnabel, G. (2015). Resistance in
593 *Colletotrichum siamense* from peach and blueberry to thiophanate-methyl and
594 azoxystrobin. *Plant disease*, 99(6), 806-814.
- 595 Ishii, H. (2015). Stability of resistance. In: Ishii, H., & Hollomon, D. W. (Eds.). *Fungicide*
596 *resistance in plant pathogens: principles and a guide to practical management* (pp. 35–48).
597 Tokyo: Springer Japan.
- 598
- 599 Ishii, H., Udagawa, H., Yanashe, H., & Yamaguchi, A. (1985). Resistance of *Venturia*
600 *nashicola* to thiophanate-methyl and benomyl: build-up and decline of resistance in the
601 field. *Plant pathology*, 34(3), 363-368.
- 602 Karaoglanidis, G. S., Luo, Y., & Michailides, T. J. (2011). Competitive ability and fitness of
603 *Alternaria alternata* isolates resistant to QoI fungicides. *Plant disease*, 95(2), 178-182.
- 604 Kimathi, H., Amorim, L., Rezende, J. A. M.; Bergamim Filho, A.; Camargo, L. E. A. (2005).
605 Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. (São Paulo: Ceres, v.2, p. 663, 2005.
- 606 LaMondia, J. A., & Douglas, S. M. (1997). Sensitivity of *Botrytis cinerea* from Connecticut
607 greenhouses to benzimidazole and dicarboximide fungicides. *Plant disease*, 81(7), 729-732.
- 608 Lehner, M. S., Paula Júnior, T. J., Silva, R. A., Vieira, R. F., Carneiro, J. E. S., Schnabel, G.,
609 & Mizubuti, E. S. G. (2015). Fungicide sensitivity of *Sclerotinia sclerotiorum*: A thorough
610 assessment using discriminatory dose, EC50, high-resolution melting analysis, and
611 description of new point mutation associated with thiophanate-methyl resistance. *Plant*
612 *disease*, 99(11), 1537-1543.
- 613 Lichtemberg, P. S., Michailides, T. J., Puckett, R. D., Zeviani, W. M., & De Mio, L. L. M.
614 (2019). Fitness costs associated with G461S mutants of *Monilinia fructicola* could favor the
615 management of tebuconazole resistance in Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 44(2), 140-150.
- 616 Maringoni, A. C., Barros, E. M. (2002). Ocorrência de isolados de *Colletotrichum*
617 *lindemuthianum* resistentes a fungicidas benzimidazóis. *Summa Phytopathologica*, 28(2),
618 197-200.
- 619 Ma, Z., & Michailides, T. J. (2005). Advances in understanding molecular mechanisms of
620 fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic
621 fungi. *Crop protection*, 24(10), 853-863.

- 622 McGRATH, M. T. What are Fungicides?. Disponível em:
623 <https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/topics/Pages/fungicidesPort.aspx> 2004. Acesso em:
624 22 março de 2019.
- 625 Mikaberidze, A.; McDonald, B. (2015). In: Ishii, H., & Hollomon, D. W. (Eds.). *Fungicide*
626 *resistance in plant pathogens: principles and a guide to practical management* (pp. 35–48).
627 Tokyo: Springer Japan.
- 628 Moreira, R. R., Hamada, N. A., Peres, N. A., & May De Mio, L. L. (2019). Sensitivity of
629 *Colletotrichum acutatum* species complex from apple trees in Brazil to dithiocarbamates,
630 MBC and QoI fungicides. *Plant Disease* .
- 631 O'Donnell, K., & Cigelnik, E. (1997). Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a
632 monophyletic lineage of the fungus fusarium are nonorthologous. *Molecular phylogenetics*
633 *and evolution*, 7(1), 103-116.
- 634 Peng MT, Huang CT, Chung WH. (2008) Sensitivity and resistance of mango anthracnose
635 fungi to QoIs (Strobilurin) and Benzimidazoles in Taiwan. *Plant Pathol Bull* 17:99.
- 636 Pereira, A. V. S., Martins, R. B., Michereff, S. J., Silva, M. B., & Câmara, M. P. S. (2012).
637 Sensitivity of *Lasiodiplodia theobromae* from Brazilian papaya orchards to MBC and DMI
638 fungicides. *European Journal of Plant Pathology*, 132, 489–498.
- 639 Picinini, E. C (1994). Fungicidas benzimidazoles. Revisão Anual de Patologia de Plantas, 2,
640 357-409.
- 641 Peres, N. A. R., Souza, N. L., Peever, T. L., & Timmer, L. W. (2004). Benomyl sensitivity of
642 isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from citrus. *Plant Disease*, 88(2),
643 125-130.
- 644 Pérez, M. A., Navarro, H., & Miranda, E. (2013). Residuos de plaguicidas en hortalizas:
645 problemática y riesgo en México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29, 45-
646 64.
- 647 Pessoa, W.R.L.S., Oliveira, S.M.A. (2009). Doenças da banana. In: Oliveira, S.M.A.; Terao,
648 D.; Dantas, S.A.F.; Tavares, S.C.C.H. (Eds.). *Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e*
649 *ornamentais tropicais*. (p. 539-553). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica.

- 650 Ramdial, H., Hosein, F. N., & Rampersad, S. N. (2016). Detection and molecular
651 characterization of benzimidazole resistance among *Colletotrichum truncatum* isolates
652 infecting bell pepper in Trinidad. *Plant disease*, 100(6), 1146-1152.
- 653 Reuveni, M.; Sheglov, D. (2002). Effects of azoxystrobin, difeconazole, poloxyn B (polar)
654 and trifloxystrobin on germination and growth of *Alternaria alternata* and decay in red
655 delicious apple fruit. *Crop Protection*. 21, 951-955.
- 656 Rojo-Báez, I., Álvarez-Rodríguez, B., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo-Barajas,
657 A., & Allende-Molar, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichum* spp. en México:
658 Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista mexicana de fitopatología*, 35(3),
659 549-570.
- 660 Russell, P. E. (2002). *Sensitivity baselines in fungicide resistance research and*
661 *management* (pp. 1-53). Brussels: Crop Life International.
- 662 SAGARPA – Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y alimentación. Lo
663 que debes saber del plátano Disponible em: < [https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/resaca-](https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/resaca-nada-mejor-que-un-smoothie-de-platano?idiom=es)
664 [nada-mejor-que-un-smoothie-de-platano?idiom=es](https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/resaca-nada-mejor-que-un-smoothie-de-platano?idiom=es)>>. Acesso em 03 de julho de 2019.
- 665 Santos, K. M., Tsuji, S. S., Câmara, M. P. S., Michereff, S. J., & Lopes, U. P. (2019).
666 Sensitivity to methyl benzimidazole carbamate fungicides of Botryosphaeriaceae species from
667 mango orchards in the Northeast of Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 153(1),
668 209-222.
- 669 Silva, B.S. Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum truncatum* da soja a fungicidas.
670 Dissertação, 110f. Agronomia. Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2018.
- 671 Santos, P. C. D. M., Lima, W. G., Bezerra, C. D. S., Michereff, S. J., & CÂMARA, M. P. S.
672 (2015). Diversity of genotypic and pathogenic of *Colletotrichum musae* in
673 Pernambuco. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37(2), 355-366.
- 674 Silva, C. M. M. S., Melo, I. S. (2008). Biodegração de fungicidas benzimidazóis. In: MELO,
675 S. I. Microbiologia ambiental. 2. ed. revisão ampliada - Jaguariúna: Embrapa Meio
676 Ambiente, 647.

- 677 Vieira, W. A. D. S., Lima, W. G., Nascimento, E. S., Michereff, S. J., Reis, A., Doyle, V. P.,
678 & Câmara, M. P. S. (2017). Thiophanate-methyl resistance and fitness components of
679 *Colletotrichum musae* isolates from banana in Brazil. *Plant disease*, 101(9), 1659-1665.
- 680 Young, D. H. Mechanisms of Resistance: Anti-tubulin agents. In: Ishii, H., & Hollomon, D.
681 W. (Eds.). *Fungicide resistance in plant pathogens: principles and a guide to practical*
682 *management* (pp. 35–48). Tokyo: Springer Japan.
- 683 Walker, A. S., Micoud, A., Rémuson, F., Grosman, J., Gredt, M., & Leroux, P. (2013). French
684 vineyards provide information that opens ways for effective resistance management of
685 *Botrytis cinerea* (grey mould). *Pest Management Science*, 69(6), 667-678.
- 686 Wong, F. P., De la Cerda, K. A., Hernandez-Martinez, R., & Midland, S. L. (2008). Detection
687 and characterization of benzimidazole resistance in California populations of *Colletotrichum*
688 *cereale*. *Plant disease*, 92(2), 239-246.

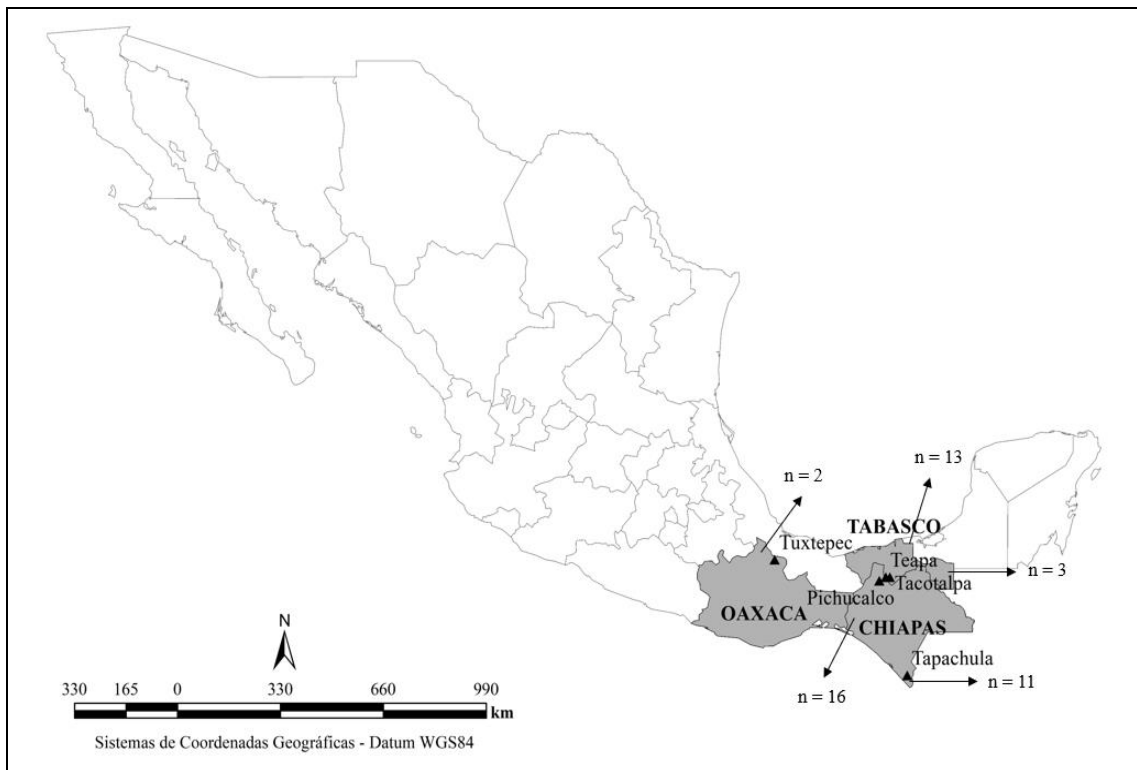


Figura 1. Locais de origem dos isolados de *Colletotrichum musae* provenientes das principais áreas de cultivo de banana do México.

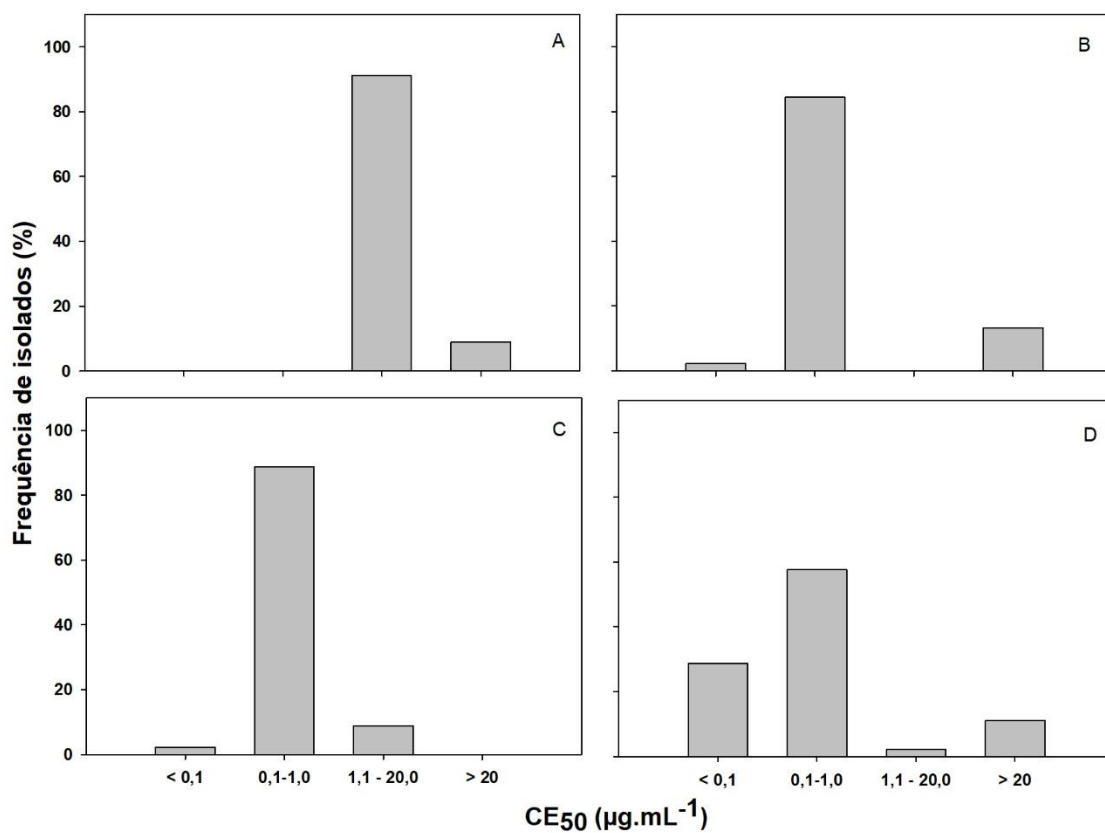


Figura 2. Distribuição de frequência de 45 isolados de *Colletotrichum musae* provenientes de áreas de cultivo do México, com base nos valores da concentração efetiva de fungicida capaz de inibir 50% do crescimento micelial (CE₅₀). A- Carbendazim. B- Tiofanato-metílico. C- Tiabendazol. D- Benomil.

Tabela 1 - Lista de isolados de *Colletotrichum musae* provenientes de áreas de plantio de banana do México, selecionados com base nos menores e maiores valores de CE₅₀ para os diferentes fungicidas

Código do isolado*	CE ₅₀ (µg.mL ⁻¹)							
	Carbendazim		Tiofanato-metílico		Tiabendazol		Benomil	
	S	MS	S	MS	S	MS	S	MS
CMM-3483	-	-	-	162,9	-	4,1	-	21,5
CMM-3484	-	-	-	-	0,45	-	-	-
CMM-3487	-	8,0	-	-	-	-	-	-
CMM-3493	-	74,4	-	41,9	-	12,7	-	23,3
CMM- 3501	-	-	-	-	0,42	-	0,08	-
CMM-3503	-	-	-	-	-	1,0	-	-
CMM-3506	-	87,0	-	40,6	-	-	-	28,9
CMM- 3508	-	-	-	-	-	1,4	-	-
CMM-3520	-	158,9	-	41,4	-	-	-	54,5
CMM-3521	-	-	-	-	0,49	-	-	-
CMM-3522	-	-	-	-	0,45	-	0,04	-
CMM-3530	-	-	0,18	-	0,06	-	0,007	-
CMM-3537	2,5	-	-	-	-	-	-	-
CMM-3545	-	-	0,15	-	-	-	-	-
CMM-3553	-	-	-	66,2	-	-	-	-
CMM-3570	2,0	-	-	-	-	-	0,04	-
CMM-3574	2,3	-	-	-	-	-	-	-
CMM-3595	-	-	0,07	-	-	-	-	-
CMM-3596	-	-	0,13	-	-	-	-	-
CMM-3597	-	-	-	-	-	-	0,02	-
CMM-3602	-	29,7	-	-	-	6,6	-	22,8
CMM-3605	-	-	0,18	-	-	-	-	-
CMM-3622	2,1	-	-	-	-	-	-	-
CMM-3777	1,9	-	-	-	-	-	-	-

*Código da Coleção de Cultura de Fungos Fitopatogênicos “Professora Maria Menezes” (CMM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife, Pernambuco, Brasil). S: isolados sensíveis; MS: isolados menos sensíveis.

Tabela 2 - Correlação entre os valores da concentração efetiva capaz de inibir 50% do crescimento micelial (CE_{50}) para os diferentes fungicidas

	Tiofanato-metílico	Tiabendazol	Benomil
Carbendazim	0,438 *	0,620 *	0,459 *
Tiofanato- metílico	-	0,506 *	0,682 *
Tiabendazol	-	-	0,346 *

* Significativo ($P = <0,01$).

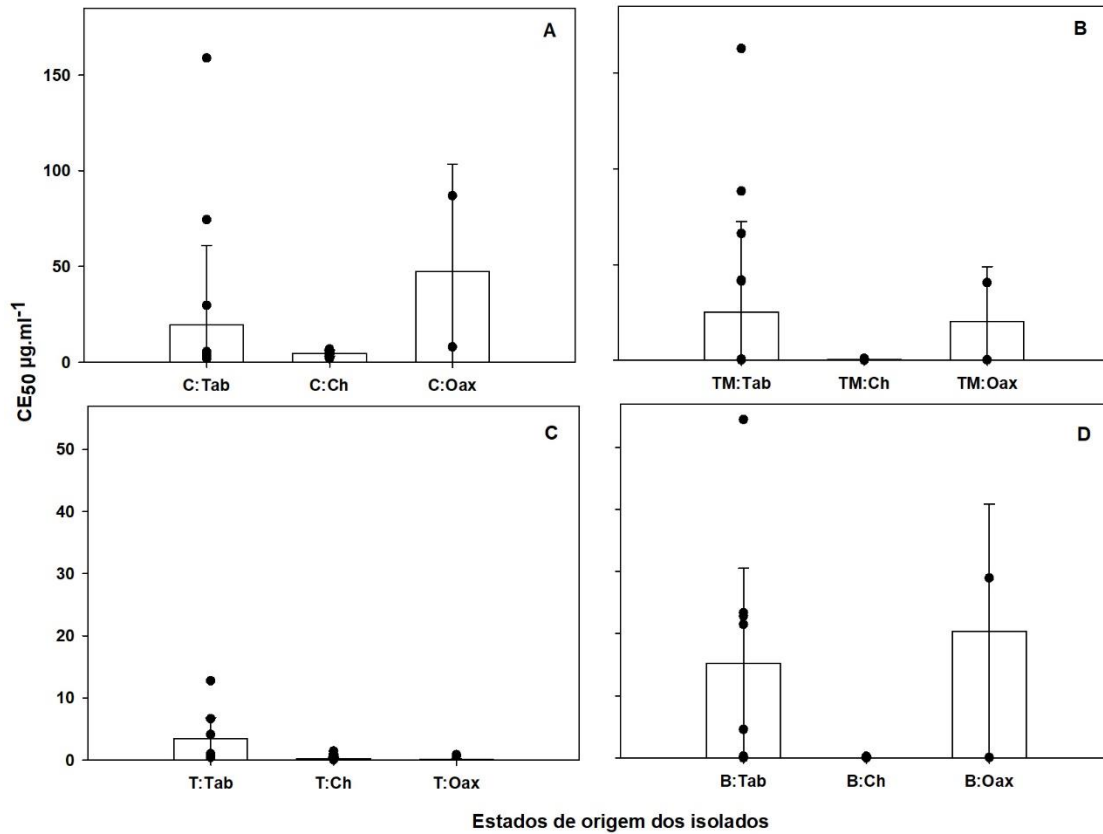


Figura 3. Valores médios de CE_{50} dos isolados de *Colletotrichum musae* provenientes de diferentes estados aos fungicidas carbendazim (A), tiofanato-metílico (B), tiabendazol (C) e benomil (D). Os valores representam a média de quatro isolados. Os pontos representam os valores de CE_{50} de cada isolado. Barras representam o desvio padrão. Tab: Tabasco (n= 16); Ch: Chiapas (n=27); Oax: Oaxaca (n= 2).

Tabela 3. Estabilidade da sensibilidade de isolados de *Colletotrichum musae* S e MS aos diferentes fungicidas, após dez ciclos sucessivos de crescimento

Classe de isolados ^a	CE ₅₀ (µg.mL ⁻¹) ^b							
	Carbendazim		Tiofanato- metílico		Tiabendazol		Benomil	
	T ₀	T ₁₀	T ₀	T ₁₀	T ₀	T ₁₀	T ₀	T ₁₀
S	2,1 a	2,1 a	0,1 a	0,1 a	0,3 a	0,3 a	0,0 a	0,0 a
MS	71,6 a	70,4 a	70,6 a	68,4 a	5,2 a	5,9 a	30,2 a	29,9 a

^a Cada classe é composta por cinco isolados, selecionados com base nos menores e maiores valores de CE₅₀ para os diferentes fungicidas. S: isolados sensíveis; MS: isolados menos sensíveis.

^b Concentração efetiva do fungicida capaz de inibir 50% do crescimento micelial no tempo zero (T₀) e após dez transferências (T₁₀) sucessivas em meio BDA sem fungicida. Médias seguidas da mesma letra na linha para cada fungicida não diferem significativamente de acordo com o teste t-Student (P=0,05).

Tabela 4. Severidade da antracnose (diâmetro da lesão) em frutos de banana tratados com os diferentes fungicidas antes da inoculação com isolados de *Colletotrichum musae* S e MS

Classe de isolados ^a	Diâmetro da lesão (mm) ^b							
	Carbendazim		Tiofanato-metílico		Tiabendazol		Benomil	
	-	+ *	-	+	-	+	-	+
S	7,8 a	0,6 b	7,3 a	1,8 b	7,3 a	0,6 b	7,2 a	0,6 b
MS	8,2 a	5,0 b	7,5 a	4,5 b	8,7 a	4,9 b	8,0 a	4,9 b

^a Cada classe é composta por cinco isolados, selecionados com base nos menores e maiores valores de CE₅₀ para os diferentes fungicidas. S: isolados sensíveis; MS: isolados menos sensíveis.

^b Médias seguidas da mesma letra na linha para cada fungicida não diferem significativamente de acordo com o teste t-Student (P=0,05).

(*) (-): Sem fungicida; (+): Com fungicida.

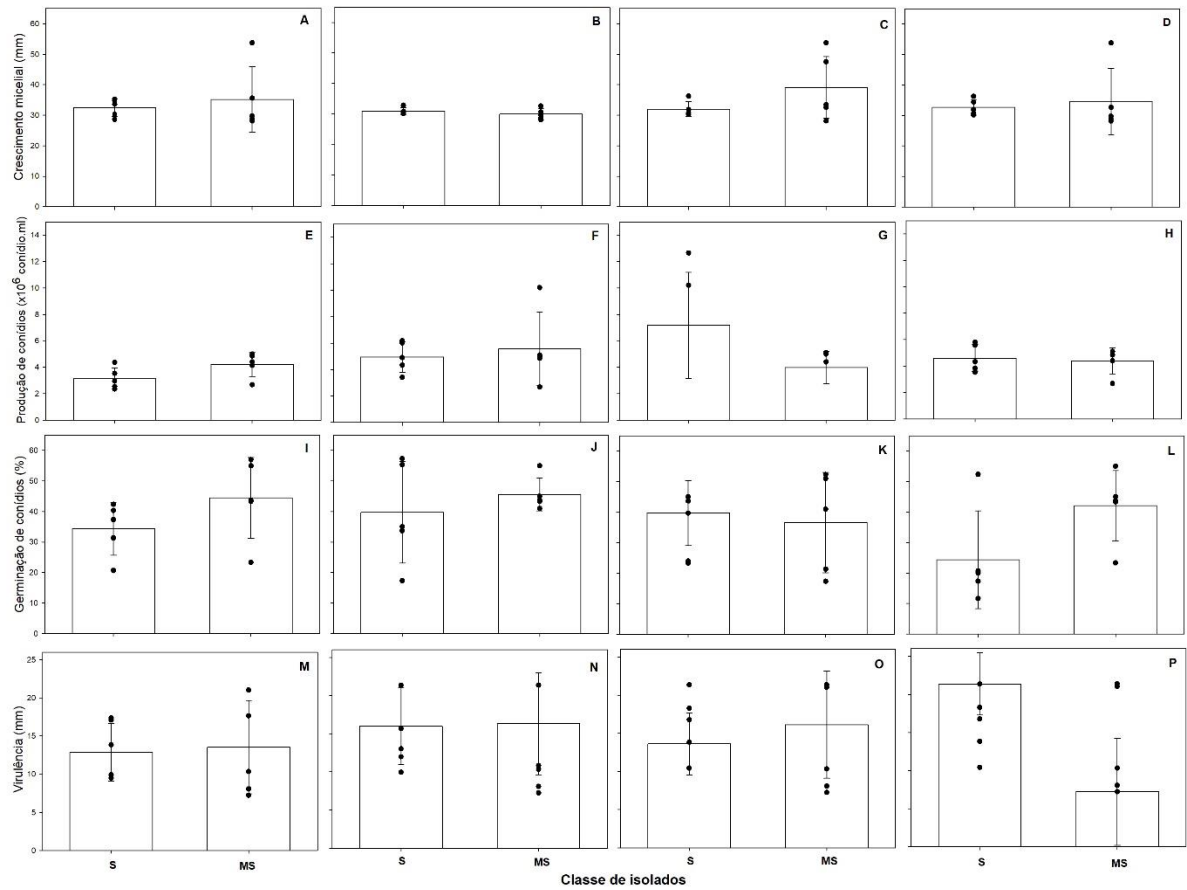


Figura 4. Componentes de adaptabilidade de isolados de *Colletotrichum musae* S e MS aos diferentes fungicidas. Crescimento micelial (A-D); produção de conídios (E-H); germinação de conídios (I-L); virulência (M-P). Os valores representam a média de cinco isolados. Os pontos representam os valores de CE_{50} de cada isolado. Barras representam o desvio padrão.

Tabela 5. Componentes de adaptabilidade de isolados de *Colletotrichum musae* sensíveis (S) e menos sensíveis (MS) aos fungicidas MBC, selecionados para o ensaio de competição.

Componentes de adaptabilidade					
Isolados	Classe	Crescimento micelial (mm)	Produção de conídios ($\times 10^6$ conídios.mL ⁻¹)	Germinação (%)	Diâmetro de lesão (mm)
CMM-3530	S	30,4 (1,0)*	4,3 (0,2)	17,3 (4,5)	21,3 (4,8)
CMM-3493	MS	28,1 (4,0)	4,6 (0,1)	43,6 (7,0)	7,2 (2,11)
CMM-3483	MS	32,6 (0,6)	4,6(0,3)	45,0 (11,1)	21,3 (1,7)
CMM-3622	S	28,6 (5,1)	5,0 (0,2)	54,0 (3,0)	17,1 (1,6)
CMM-3522	S	30,5 (0,8)	5,5 (0,3)	52,3(5,6)	10,4 (1,1)
CMM-3602	MS	53,7 (2,6)	4,4 (0,2)	49,3 (1,5)	21,0 (8,9)

*Valores entre parênteses correspondem ao desvio padrão

Tabela 6. Sequência parcial de nucleotídeos e aminoácidos do gene β -tubulina de isolados de *C. musae* S e MS aos MBCs

Isolados	Acesso no GenBank	Sequência de nucleotídeos e aminoácidos								
		198			199			200		
<i>C.gloeosporioides f. sp. aeschynomenes</i> BA2	U14138.1	G	A	G	A	C	C	T	T	C
CMM-3522 (S)	Este estudo	G	A	G	A	C	C	T	T	C
Aminoácido		E			T			F		
<i>C. musae</i> RP3	KY711365	G	A	G	A	C	C	T	A	C
CMM-3483(MS)	Este estudo	G	A	G	A	C	C	T	A	C
Aminoácido		E			T			Y		

S: isolado sensível; MS: isolado menos sensível.

CAPÍTULO III

Conclusões gerais

CONCLUSÕES GERAIS

1. Isolados de *Colletotricum musae* obtidos de áreas de cultivo de banana do México apresentaram diferentes níveis de sensibilidade aos fungicidas carbendazim, tiofanato-metílico, tiabendazol e benomil.
2. Foi detectada uma correlação positiva entre a sensibilidade dos isolados aos quatro fungicidas.
3. Isolados de *C. musae* sensíveis (S) e menos sensíveis (MS) apresentaram estabilidade de sensibilidade após dez gerações.
4. Houve redução da eficácia de controle dos fungicidas em frutos de banana (cv. Prata) inoculados com isolados MS.
5. Não foram constatadas diferenças nos componentes de adaptabilidade entre os grupos de isolados S e MS de *C. musae*. Porém, houve muita variação entre os isolados dentro de cada grupo.
6. Isolados MS apresentaram maior capacidade competitiva do que os isolados S.
7. A sensibilidade reduzida do isolado CMM-3483 aos quatro fungicidas testados está relacionada à mutação no códon 200 do gene β -tubulina. No entanto, esta mutação não resultou em penalidade, uma vez que o isolado apresentou boa capacidade competitiva.