



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO E LICENCIATURA CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**

DANIELA DUARTE BARBOSA

SENSIBILIDADE BÁSICA DE *Amphobotrys ricini* À DIFERENTES FUNGICIDAS

CAMPINA GRANDE – PB
2013

DANIELA DUARTE BARBOSA

SENSIBILIDADE BÁSICA DE *Amphobotrys ricini* À DIFERENTES FUNGICIDAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharela /Licenciada em Biologia.

Orientador: **Dr. DARTANHÃ JOSÉ SOARES**

Coorientadora: **Prof^ª. Dra. ÉRICA CALDAS SILVA DE OLIVEIRA**

CAMPINA GRANDE – PB
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

B238s Barbosa, Daniela Duarte.
Sensibilidade básica de *Amphobotrys ricini* à diferentes fungicidas [manuscrito] / Daniela Duarte Barbosa. – 2013.
33 f. : il. color.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2013.
“Orientação: Prof. Dr. Dartanhã José Soares, Embrapa Algodão.”
“Co-Orientação: Profa. Dra. Érica Caldas Silva de Oliveira, Departamento de Ciências Biológicas.”

1. *Botryotinia ricini*. 2. Resistência a Fungicidas. 3. Mofo Cinzento. 4. *Ricinus communis*. I. Título.

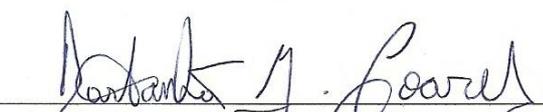
CDD 21. ed. 570

DANIELA DUARTE BARBOSA

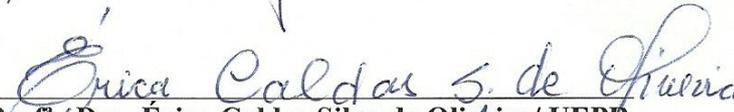
SENSIBILIDADE BÁSICA DE *Amphobotrys ricini* À DIFERENTES FUNGICIDAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharelado /Licenciada em Biologia.

Aprovada em 30/08/2013.



Dr. Dartanhã José Soares/ EMBRAPA
Orientador



Prof.ª Dra. Érica Caldas Silva de Oliveira/ UEPB
Coorientadora



Dr. Alderi Emídio de Araújo/ EMBRAPA
Examinador



Prof.ª Dra. Valéria Veras Ribeiro/UEPB
Examinadora

DEDICATÓRIA

A minha mãe, Marina Duarte Barbosa, pela dedicação,
companheirismo, amizade e incentivo, amo a senhora, DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado força e coragem nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador Dartanhã José Soares por ter aceitado me orientar, pelas leituras sugeridas ao longo dessa orientação e pela dedicação, paciência e ensinamentos.

A professora Erica Caldas de Oliveira, por ter me indicado a orientação do professor Dartanhã e por ter aceitado ser minha coorientadora.

A todos os meus irmãos e principalmente as minhas irmãs Josefa, Maria do Socorro e Penha, pela compreensão e pelo incentivo que me foram expressos.

Ao meu pai Damião Floriano Duarte (*in memoriam*), que foi um grande exemplo através de seus ensinamentos e, que contribuiu para a escolha do curso de Biologia.

A EMBRAPA Algodão e a UEPB e todas as instituições que me permitiram o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos amigos da EMBRAPA Algodão Lane, Monaliza, Waleska, Angélica, Maresa e Juarez que fazem parte da equipe do laboratório de fitopatologia, pela amizade e pela presteza e atendimento quando nos foi necessário.

Aos colegas de classe pelos momentos de amizade e apoio. Principalmente Vilma, Jucilene e Emerson David (*in memoriam*).

A Professora Valeria Veras Ribeiro e a Dr. Alderi Emídio de Araújo pela disponibilidade de avaliar este trabalho.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Amphobotrys ricini (N.F. Buchw.) Hennebert é o agente causal do mofo cinzento da mamoneira, considerada uma das doenças mais importantes dessa cultura. Esse fungo se reproduz principalmente por meio de esporos assexuados que são facilmente disperso pelo vento, respingos de chuva e insetos. Uma vez constada a doença no campo, a única estratégia de controle é por meio da aplicação de fungicidas químicos, no entanto, não existem produtos registrados para o controle de *A. ricini*, na cultura da mamoneira, no Brasil. Devido à importância da doença é necessário que fungicidas químicos estejam disponíveis para utilização quando da ocorrência da doença no campo. Contudo, antes do registro de qualquer fungicida para controle de um determinado patógeno é necessário que se determine a eficácia do mesmo contra o referido patógeno. Dessa forma no presente trabalho objetivou-se avaliar a sensibilidade de *A. ricini* a diferentes fungicidas por meio da determinação da dose efetiva para inibir 50% do crescimento micelial do fungo em condições controladas (DE₅₀). Os testes para determinação da DE₅₀ foram realizados em placas de Petri descartáveis, contendo o meio BDA, nas quais foram adicionados os fungicidas procimidone, tiofanato-metilico, clorotalonil, ciproconazole, propiconazole e fludioxonil. A DE₅₀ para cada fungicida foi determinada com base na resposta de 5 cinco isolados escolhidos de forma aleatória. No centro de cada placa foi depositado um disco de 7 mm de diâmetro, contendo o micélio em crescimento ativo do fungo, obtido a partir das margens de colônias de *A. ricini* com 5 a 10 dias de cultivo. Após a transferência dos discos, as placas foram acondicionadas em BOD a 25 ± 1 °C no escuro. As avaliações consistiram de duas medições perpendiculares do diâmetro do crescimento micelial dos tratamentos e da testemunha, após 72 horas de incubação. Os dados de crescimento micelial dos tratamentos foram utilizados para calcular a porcentagem de inibição do crescimento (PIC). A partir dos dados de PIC foram obtidas as equações de regressão para cada uma das combinações, isolado x fungicida, e a partir destas calculou-se a DE₅₀ de cada combinação. Todos os fungicidas testados foram considerados altamente eficientes na inibição do crescimento micelial de *A. ricini*. Observou-se uma distribuição normal dos isolados testados quanto à sensibilidade aos diferentes princípios ativos avaliados. A DE₅₀ para procimidone a foi de $0,1809 \pm 0,0860$ µg/ml, para tiofanato-metilico $0,0873 \pm 0,0496$ µg/ml, para clorotalonil $0,3496 \pm 0,2089$ µg/ml, para ciproconazole $0,0183 \pm 0,0081$ µg/ml, para propiconazole $0,0440 \pm 0,0356$ µg/ml e para fludioxonil $0,0031 \pm 0,0022$ µg/ml. A determinação da sensibilidade básica de *A. ricini* aos fungicidas

procimidone, tiofanato-metílico, clorotalonil, ciproconazole, propiconazole e fludioxonil poderá orientar as autoridades competentes no registro de produtos para o controle desse patógeno, como também servirem de base para o monitoramento do surgimento de resistência a fungicidas dentro das populações do fungo.

Palavras-chave: *Botryotinia ricini*. resistência a fungicidas. mofo cinzento. *Ricinus communis*

ABSTRACT

Grey mold, caused by *Amphobotrys ricini* (N.F. Buchw.) Hennebert, is one of the most important diseases of castor. This fungus produces mitotic spores that are easily dispersed by wind, water splash and insects. After the pathogen had been detected in the growing field the only way to mitigate the damage is by the use of chemical control. However, in Brazil, there is no products registered to be used in the castor crop against *A. ricini*. Due the importance of grey mold to castor crop it is crucial that such products become available, but prior to that it is necessary to evaluate the efficacy of the different active ingredient against this pathogen. The present work had as aim to evaluate the efficacy of 6 fungicides in the control of *A. ricini* by the determination of the effective concentration to inhibit 50% (EC₅₀) of the mycelial growth under controlled conditions. The assays were performed in disposable Petri dishes, containing PDA, on which the fungicides chlorotalonil, cyproconazole, fludioxonil, procymidone, propiconazole and thiophanate-methyl were added. The EC₅₀, for each fungicide, was determined based on the response of five fungus isolates randomly chosen. At the center of each Petri dish it was deposited a culture plug of 7 mm diam., containing the fungus on active grown, which was obtained from the margins 5 to 10 days old cultures. After the transfer of the culture plugs, the Petri dishes were maintained in a grew chamber at 25 ± 1 °C with continuous dark. The evaluations consisted of two perpendicular measurements of the radial fungus growth, both in the plates amended with the fungicides and in the control plates, after 72 hours of incubation. The percentage of mycelial growth inhibition (PMGI) related to the control was calculated for all concentrations of each fungicide. The data of PMGI were used to obtain the EC₅₀ by linear regression. All fungicides test were regarded highly effective on the inhibition of the mycelial growth of *A. ricini*. It was observed a normal distribution of the tested isolates regarding the sensitivity to the tested active ingredients. The EC₅₀ for procymidone was 0,1809 ± 0860 µg/ml, for thiofanate-methyl 0,0873 ± 0,0496 µg/ml, for chlorotalonil 0,3496 ± 0,2089 µg/ml, for cyproconazole 0,0183 ± 0,0081 µg/ml, for propiconazole 0,0440 ± 0,0356 µg/ml and for fludioxonil 0,0031 ± 0,0022 µg/ml. The determination of the baseline of *A. ricini* to the fungicides chlorotalonil, cyproconazole, fludioxonil, procymidone, propiconazole and thiophanate-methyl will guide the competent authorities in the registration of such products for the control of this pathogen, as well as provided the bases for monitoring the emergence of resistance within the fungus populations

KEYWORDS: *Botryotinia ricini*. fungicide resistance. grey mold. *Ricinus communis*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	11
	2.1 Objetivo geral	11
	2.2 Objetivo específico	11
3	FUNDAMENTAÇÃO TÉORICA	12
	3.1 A mamona (<i>Ricinus communis</i>)	12
	3.2 O Mofo Cinzento (<i>Amphobotrys ricini</i>)	12
	3.3 Manejo	13
	3.4 Fungicidas	13
	3.5 Grupos químicos	15
	3.5.1 Benzimidazóis	15
	3.5.2 Dicarboximidas	16
	3.5.3 DMI's – Inibidores da dimetilação	16
	3.5.4 Fenilpirroles	17
	3.5.5 Isoftalinitrilas ou cloronitrilo.....	17
4	MATERIAL E MÉTODOS	19
	4.1 Local de execução da pesquisa	19
	4.2 Obtenção e multiplicação dos isolados do fungo	19
	4.3 Escolha dos fungicidas e preparo das soluções estoque	19
	4.4 Condução dos ensaios	20
	4.4.1 Inibição do crescimento micelial de <i>Amphobotrys ricini</i> por ciproconazole, propiconazole, clorotalonil, fludioxonil, tiofanato-metilico e procimidone	20
	4.5 Cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC)	21
	4.6 Análise dos dados	21
	4.6.1 Determinação da DL ₅₀	21
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6	CONCLUSÕES	27
	REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

O mofo cinzento da mamoneira, cujo agente etiológico é o fungo *Amphobotrys ricini* (N. F. Buchw.) Hennebert, é uma das doenças economicamente mais importantes desta cultura em virtude da rápida e completa destruição dos cachos. Esta doença está presente em praticamente todos os países produtores de mamona e, dependendo das condições climáticas na época de florescimento e enchimento das bagas, pode ocasionar até 100% de perda da produção. No Brasil o mofo cinzento ocorre em quase todas as regiões produtoras, em menor ou maior grau de intensidade, dependendo das condições climáticas durante a fase de florescimento e formação de frutos (SOARES, 2012).

Devido aos programas governamentais incentivando o plantio de espécies oleaginosas para produção de biodiesel, a cultura da mamona despertou interesse de maior número de produtores, inclusive aqueles estabelecidos em áreas cujas condições climáticas favorecem o desenvolvimento do mofo cinzento.

A expansão da área cultivada com esta oleaginosa, associada à falta de conhecimentos básicos sobre a biologia do patógeno e ao uso de cultivares com níveis desconhecidos, ou mesmo sem resistência a esta doença, tem provocado perdas significativas de produtividade. Além destas questões, o fato de não existir, junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), fungicidas registrados para o manejo do mofo cinzento da mamoneira, torna a situação ainda mais grave.

Vislumbra-se, num futuro próximo, um avanço ainda maior da cultura da mamoneira para áreas favoráveis ao desenvolvimento da doença assim como a possibilidade de uso de fungicidas inadequados, cuja eficácia seja duvidosa, uma vez que não existem estudos sobre a sensibilidade deste fungo aos fungicidas atualmente disponíveis no mercado nacional.

Amphobotrys ricini possui características ecológicas e biológicas semelhantes às daquelas de *Botrytis cinerea*, sendo assim a possibilidade de surgimento de biótipos resistentes a certos fungicidas, e ainda a ocorrência de resistência cruzada entre fungicidas é um fato preocupante frente ao cenário futuro da cultura da mamoneira (SOARES, 2012). A determinação da sensibilidade básica de *A. ricini* a diferentes princípios ativos permitirá acompanhar o surgimento ou não de populações resistentes bem como aferir a eficácia dos fungicidas no controle desta importante doença.

Como não existem produtos registrados para o controle de *A. ricini*, e sabendo-se que esse fungo possui afinidade filogenética e comportamento biológico semelhante à *B. cinerea*,

foi aventada a hipótese de que fungicidas considerados eficazes contra este patógeno também seriam eficazes contra *A. ricini*. Dessa forma foram selecionados *a priori* fungicidas com seis princípios ativos diferentes, pertencentes a cinco grupos químicos, sabidamente eficazes contra *B. cinerea* para serem testados quanto à sua eficácia na inibição do crescimento micelial de *A. ricini*, com o objetivo de determinar a sensibilidade básica desse fungo aos princípios ativos selecionados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- ✓ Avaliar a sensibilidade de *Amphobotrys ricini* a diferentes fungicidas.

2.2 Objetivo específico

- ✓ Determinar, em condições controladas, a sensibilidade básica de *Amphobotrys ricini* aos fungicidas ciproconazole, clorotalonil, fludioxonil, procimidone, propiconazole, e tiofanato-metílico por meio da determinação da dose efetiva para inibir 50% do crescimento micelial do fungo.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 A mamoneira (*Ricinus communis* L.)

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma planta pertencente à família Euphorbiaceae é a única espécie do gênero *Ricinus*. Planta de clima tropical, a mamoneira adaptou-se muito bem às condições edafoclimáticas do Brasil (CHAGAS, 2009).

O Brasil é o terceiro maior produtor dessa oleaginosa, responsável por cerca de 12% da produção mundial, ficando atrás apenas da China (54%) e da Índia (23%) (SEVERINO et al., 2012). Seu cultivo está presente em vários estados brasileiros, mas é nos estados da região Nordeste onde se encontra a maior área cultivada. No ano de 2012 o estado da Bahia, principal produtor, foi responsável por 77% da produção nacional, seguido pelo estado do Ceará, com cerca de 9% (IBGE, 2012).

Embora, não seja uma cultura utilizada para o consumo humano, a mamoneira possui grande importância econômica, pois das suas sementes é extraído o óleo, que possui propriedades únicas, como alta viscosidade e estabilidade em uma larga faixa de temperatura. A torta de mamona pode ser utilizada como adubo orgânico para o solo, por apresentar alto teor de nitrogênio, além de poder ser adicionada à ração animal, ou utilizada como nematicida (SEVERINO, 2007; CHAGAS, 2009; SUSSEL, 2009).

3.2 O Mofo Cinzento

O mofo cinzento é uma doença que acomete a mamoneira e tem como agente etiológico o fungo *Amphobotrys ricini* (N.F. Buchw.) Hennebert (SOARES, 2012).

Godfrey (1923) relatou o fungo pela primeira vez infectando inflorescências e racemos de mamoneira em plantações nos Estados Unidos. No Brasil o mofo cinzento foi constatado pela primeira vez no ano de 1932 e, atualmente, é considerada uma das doenças mais importante da mamoneira (SEVERINO et al., 2012). Geralmente o fungo sobrevive de um ano para outro em restos de cultura ou em mamoneiras do tipo selvagem, sob as formas de micélio, conídios ou escleródios (BATISTA, 1996).

Temperaturas amenas e alta umidade são fatores determinantes para o desenvolvimento do fungo nas áreas de cultivo da mamoneira. As temperaturas mais adequadas para o desenvolvimento do patógeno variam entre 20 °C e 25 °C (SUSSEL, 2009;

SOARES, 2012). De acordo com Godfrey (1923), as temperaturas mínima e máxima para o crescimento micelial, seriam de 12 e 35 °C, respectivamente.

Usualmente o mofo cinzento atinge as inflorescências e os cachos da planta, em qualquer fase de desenvolvimento, e também pode acometer folhas e caule. A doença caracteriza-se pelo aparecimento de manchas azuladas, tanto no caule quanto nas folhas ou nas inflorescências, as quais exsudam um líquido amarelado (BATISTA, 1996; SOARES, 2012). As sementes das cápsulas afetadas apresentam redução do óleo ou chochamento completo, dependendo do período de infecção do mofo (MASSOLA JR.; BEDENDO, 1997).

3.3 Manejo

Os problemas causados pelo mofo cinzento ao cultivo da mamoneira se intensificam na mesma medida em que se aumenta a área cultivada, principalmente pela utilização de cultivares mais produtivas, porém não resistentes ao fungo (LIMA et al., 2001). Apesar disso, os estudos sobre manejo do mofo cinzento ainda são poucos e, conseqüentemente, medidas preventivas e/ou curativas que sejam plenamente eficazes contra a doença são inexistentes. Como forma de diminuir os danos causados pela doença recomenda-se o uso de cultivares resistentes, tratamento das sementes antes do plantio, eliminação de restos culturais e hospedeiros alternativos, plantio evitando que as fases de florescimento e enchimento dos frutos coincidam com as épocas chuvosas, além da aplicação de fungicidas (BATISTA, 1996; KIMATI, 1997; MASSOLA JR.; BEDENDO, 1997; SOARES, 2012). Entretanto, nenhuma das práticas citadas acima é eficaz quando adotada isoladamente. Como não existem cultivares resistentes à doença (MILANI, 2005) a utilização de fungicidas químicos é a alternativa mais viável para o controle da mesma após sua constatação no campo de cultivo. Contudo, a eficácia dessa medida esbarra na falta de informação acerca da efetividade dos fungicidas sobre o agente causal da doença (SOARES, 2012).

3.4 Fungicidas

A aplicação de fungicidas químicos, para o controle de doenças de plantas, é uma das práticas mais difundidas na agricultura, principalmente devido a sua rápida resposta e eficácia. Os fungicidas atuam em vários sítios do metabolismo celular dos fungos e são

classificados de acordo com os mecanismos de ação, que podem ser específicos a determinado sítio ou não (DELEN; TUSON, 2003).

A ação dos fungicidas, no controle das pragas, é conhecida há vários anos. Em 1.000 a.C. já havia indícios da utilização do enxofre no controle de pragas. Por volta dos anos 1800, o enxofre juntamente com os sais de cobre e o mercúrio passaram a ser utilizados intensamente no controle das doenças de planta e assim se constituindo na primeira geração de fungicidas (DELEN; TUSON, 2003).

Em 1940 foram introduzidos no mercado fungicidas protetores orgânicos de amplo espectro de ação, dentre eles os ditiocarbamatos, nitrilas, orgânicos a base de enxofre, nitrogenados heterocíclicos, dinitrofenóis, fenóis halogenados, nitro-benzeno halogenados entre outros, os quais constituíram a segunda geração de fungicidas. No final dos anos 1960 foram introduzidos os fungicidas sistêmicos, que apresentavam modo de ação específica e alta toxicidade em baixas concentrações, dentre os quais podemos destacar as carboxamidas, benzimidazois, dicarboximidas, inibidores da biossíntese de esteróis entre outros, constituindo assim a terceira geração de fungicidas. Estes continuam sendo amplamente utilizados no controle de doenças de plantas (MICHEREFF, 2001).

Baseando-se nas características de aplicação, os fungicidas podem ser classificados em: erradicantes ou de contato, protetores ou residuais e curativos ou terapêuticos. Os fungicidas erradicantes ou de contato atuam diretamente sobre o patógeno, a partir do tratamento do solo e de sementes. Os fungicidas protetores ou residuais são aplicados em partes mais sensíveis da planta, formando uma camada superficial protetora, antes da deposição do inóculo do patógeno. Fungicidas curativos ou terapêuticos atuam após o estabelecimento do patógeno na planta, atenuando os sintomas ou reparando os danos causados pelo agente causador da doença.

Em alguns casos, os fungicidas erradicantes e protetores podem atuar da mesma forma que os fungicidas curativos. No entanto, a ação sistêmica dos fungicidas curativos permite a capacidade de translocação do produto para outras partes da planta, diminui a fitotoxicidade e permite a atuação fungitóxica dentro da planta (KIMATI, 1995).

Os fungicidas de modo de ação não específica atuam em múltiplos sítios bioquímicos, não são sistêmicos e apresentam pouco ou nenhum risco de resistência. Por outro lado, os fungicidas de modo de ação específica atuam em sítios simples, são sistêmicos e apresentam um maior risco de surgimento de resistência, podendo este risco ser diagnosticado como: alto, médio ou baixo (DELEN; TUSON, 2003).

A eficácia do uso dos fungicidas para o manejo de doenças é indiscutível, no entanto, algumas vezes são observadas falhas, no controle de determinado patógeno, que muitas vezes é erroneamente interpretado como um caso de surgimento de resistência. Na verdade, em muitos casos, tal falha deve-se ao erro de dosagem na aplicação do produto, problemas de calibragem do equipamento de pulverização, diagnóstico incorreto do patógeno, utilização de produtos não recomendados, produto deteriorado, condições climáticas desfavoráveis entre outras (BRENT, 1995; GHINI; KIMATI, 2000).

Assim sendo, devido à falta de conhecimento sobre a eficiência de diferentes tipos de fungicidas sobre o agente causal do mofo cinzento da mamoneira, tal situação pode levar a errônea conclusão de que determinado produto não é recomendado para o controle do referido patógeno.

3.5 Grupos químicos

3.5.1 Benzimidazóis

Constituem um dos mais importantes grupos químicos que atuam no controle de doenças de plantas, é utilizado desde 1960, e fazem parte deste grupo: benomil, carbendazim, fuberidazole, thiabendazole e tiofanato-metílico.

Destes, o benomil foi um dos mais importantes fungicidas, no controle das doenças de plantas. No entanto, com base em estudos realizados pela World Health Organization (1994), constatou-se que o princípio ativo benomil era carcinogênico, provocando em camundongos efeitos neurotóxicos. A partir dessa informação a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2013), proibiu o uso e a venda deste fungicida e, em 04 de janeiro de 2002 entrou em vigor o Decreto nº 4.074 que proíbe em seu artigo 31, incisos III, IV e V o registro de agrotóxicos que sejam considerados, carcinogênicos, teratogênicos e mutagênicos. Os benzimidazóis possuem um amplo espectro de ação, atuando contra vários Ascomicetos e Basidiomicetos, e são sistêmicos. Quando aplicados nas raízes da planta acumulam-se nas folhas. O modo de ação dos benzimidazóis consiste em provocar a quebra do agrupamento microtubular. Os benzimidazóis interferem no crescimento do tubo germinativo dos fungos ao interromper a mitose, o que ocasiona a inibição do crescimento do fungo (DELEN; TUSON, 2004). Apresentam grande afinidade pelas proteínas tubulinas, o que provoca a destruição da

mitose na metáfase, resultando na falha na divisão do núcleo e provocando a morte da célula (JULIATTI, 2005; RODRIGUES, 2006).

É um grupo considerado de alto risco ao desenvolvimento de resistência, ocorrendo frequentemente em várias espécies de fungos, além de estarem sujeitos a resistência cruzada entre os fungicidas pertencentes ao mesmo grupo químico. Esse foi um dos primeiros grupos de fungicidas a apresentar resistência a *Botrytis* spp. (DELP, 1980; GHINI; KIMATI, 2000).

3.5.2 Dicarboximidas

Fazem parte deste grupo os seguintes fungicidas, iprodione, vinclozolin, procimidone e clozolinato. As dicarboximidas usualmente não são sistêmicas, seu modo de ação ainda é motivo de debate e o alvo primário é desconhecido. Entretanto, sabe-se que estes fungicidas podem atuar em diferentes eventos metabólicos e partes celulares (DELEN; TUSON, 2004; LEROUX, 2007). Por exemplo, em *Botrytis cinerea* e *Mucor mucedo*, as dicarboximidas interferem no processo respiratório, bloqueando a atividade da enzima NADPH, citocromo-c-redutase e de outras enzimas causando a peroxidação de lipídeos, inibindo a germinação de esporos e o crescimento micelial desses fungos (DELEN; TUSON, 2004; RODRIGUES, 2006).

Fungicidas desse grupo possuem um amplo espectro de ação sendo utilizados efetivamente no controle de vários gêneros de fungos, entre eles *Botrytis*, *Sclerotinia* e *Monilinia* (BRENT, 1995; KIMATI, 1995).

As dicarboximidas são aplicadas no controle de *Botrytis* desde os anos 1970, mas apresentam um alto risco de resistência. Infelizmente a resistência relacionada a problemas práticos no controle das populações de patógenos, é mais frequente em *Botrytis*. Isso foi constatado durante os anos 1980, quando em plantações de videiras em algumas partes da Europa, observou-se o aumento gradual da dificuldade em se controlar o fungo (BRENT, 1995; LA MONDIA, 1997).

3.5.3 Inibidores da dimetilação – DMI's

Os fungicidas inibidores da demetilação (DMI's) compreendem os triazóis, os imidazóis, as piperazinas, as pirimidinas e as piridinas. Os DMI's são um grupo que possui mais de 30 produtos registrados. São fungicidas de modo de ação específica, responsáveis por

inibirem a biosíntese do esterol (GHINI; KIMATI, 2000; JULIATTI, 2005). Apresentam grande variedade no espectro de ação e são considerados como um grupo de risco moderado para o surgimento de resistência (GHINI; KIMATI, 2000). Fungicidas desse grupo atuam principalmente na demetilação do carbono 14 (C14) que é catalizada pelo citocromo P-450. Uma vez que o nível de inibição do citocromo P-450 é variável de composto para composto, o grau de eficiência dos diversos fungicidas contra as diferentes espécies de fungos também é variável (RODRIGUES, 2006).

Os triazóis e os imidazóis apresentam um amplo espectro de ação, são sistêmicos e conseqüentemente são transportados para partes novas da planta, que estão em crescimento, e que não foram inicialmente tratadas promovendo assim uma maior eficácia de proteção (DELEN; TUSON, 2004). Dentre os triazóis destacam-se o ciproconazole e o propiconazole, os quais já foram avaliados para o controle de *B. cinerea* e também *A. ricini* (KIMURA et al., 2001; PRAZERES, 2011).

3.5.4 Fenilpirroles

Inclui dois fungicidas, o fenilpiclonil e o fludioxonil. São derivados de compostos antifúngicos produzidos por *Pseudomonas pyrocinia*, possuem amplo espectro de ação, são estáveis contra a hidrólise e a decomposição no solo. O fludioxonil é utilizado na parte foliar da planta e atua contra fungos dos gêneros *Botrytis* e *Monilinia*. Os fenilpirroles agem nos fungos inibindo o açúcar e a absorção de aminoácidos. (DELEN; TUSON, 2004)

Estes fungicidas atuam sobre a regulação do metabolismo celular do patógeno, provocando a partir de proteínas quinase uma desordem no processo de fosforilação e desfosforilação. Essas proteínas atuam na regulação osmótica da célula por estímulos extracelular, quando essa sinalização extracelular não ocorre, o glicerol torna-se impermeável a membrana celular, não sendo sintetizado e acumulando-se no citosol (RODRIGUES, 2006).

A resistência é de risco moderado, embora, já tenha sido detectada em algumas populações de patógenos. Em *B. cinerea* foram diagnosticados isolados resistentes em condições de laboratório, mas em campo ainda não foram obtidos populações resistentes (DELEN; TUSON, 2004).

3.5.5 Isoftalinitrilas ou cloronitrilas

Dentro desse grupo merece destaque o clorotalonil que possui em sua constituição estrutural o grupo nitril, e é um fungicida com amplo espectro de ação, e apresenta atividades em múltiplos sítios, sendo que seu modo de ação afeta principalmente o metabolismo da respiração e geração de energia, interferindo nas funções enzimáticas dos patógenos. O fungicida age interrompendo a glicólise e a enzima gliceraldeído-3-fosfato de hidrogenase não é ativada juntamente com outras enzimas, o que provoca a falta de energia. Com a desativação destas enzimas o ciclo de Krebs não é completado, não produzindo ATP. Assim, o fungo morre por não conseguir finalizar os processos essenciais a sua sobrevivência (RODRIGUES, 2006).

É considerado um produto de baixo risco no desenvolvimento de resistência, pois seu modo de ação não é específico, atuando por contato e é considerado efetivo contra vários gêneros de fungos (GHINI; KIMATI, 2000; DELEN; TUSON, 2003).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local de execução da pesquisa

Os testes foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA – Algodão, situada na Rua Osvaldo Cruz, nº 1143, no bairro Centenário, na cidade de Campina Grande PB.

4.2 Obtenção e multiplicação dos isolados do fungo

Todos os isolados de *A. ricini* utilizados no presente trabalho foram provenientes da Coleção de Culturas de Microrganismos Fitopatogênicos da Embrapa Algodão (CCMF-CNPA).

Uma vez que os isolados a serem utilizados estavam preservados em óleo mineral, foi necessário, antes da realização dos ensaios, proceder à reativação do crescimento micelial dos mesmos. Para tal foram retirados, dos frascos de preservação, fragmentos do micélio do fungo os quais foram transferidos para placas de Petri contendo o meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA). As placas foram então mantidas em câmara de crescimento a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, no escuro. Decorridos 5 a 7 dias, foi realizada a repicagem de cada um dos isolados a serem utilizados para três placas de Petri contendo o mesmo meio de cultura, as quais foram mantidas nas condições especificadas acima.

4.3 Escolha dos fungicidas e preparo das soluções estoque

Com base eficácia para o controle de *B. cinerea* foram escolhidos seis fungicidas comerciais, com seis princípios ativos diferentes e pertencentes a cinco grupos químicos distintos (Tabela 1).

Para o preparo das soluções estoques, alíquotas dos produtos comerciais foram diluídas em série, em DMSO (dimetilsulfoxido), até obtenção das concentrações desejadas e, de modo que ao serem adicionadas ao meio de cultura, a quantidade final de DMSO no mesmo fosse constante.

Inicialmente foram obtidas 10 concentrações para cada um dos fungicidas a serem testados e após a realização de um pré-screening foram escolhidas cinco concentrações, as

quais variaram em função da efetividade de cada fungicida. As concentrações das soluções estoque de cada um dos fungicidas testados estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1. Fungicidas avaliados quanto à eficácia para inibir o crescimento micelial de *Amphobotrys ricini*.

Grupo Químico	Ingrediente ativo	Nome comercial	Concentrações das soluções estoque (ppm do i.a.)
Benzimidazóis	Tiofanato-metílico	Cercobin 500 SC	1000; 100; 30; 10; 3
Dicarboximidas	Procimidone	Sumilex 100 WP	1000; 100; 30; 10; 3
DMI	Ciproconazole	Alto 100	100; 30; 10; 3; 1
DMI	Propiconazole	Tilt	100; 30; 10; 3; 1
Fenilpirroles	Fludioxonil	Maxim	10; 3; 1; 0,3; 0,1
Cloronitrilo	Clorotalonil	Bravonil 500	1000; 300; 100; 30; 10

4.4 Condução dos ensaios

4.4.1 Inibição do crescimento micelial de *Amphobotrys ricini* por ciproconazole, clorotalonil, fludioxonil, procimidone, propiconazole e tiofanato-metílico.

Os isolados utilizados nos testes de inibição do crescimento micelial foram escolhidos de forma aleatória da CCMF-CNPA, sendo eles originários dos estados de Minas Gerais, Paraíba, Rio Grande do Sul, São Paulo e do Distrito Federal.

Para a obtenção das concentrações finais de cada um dos fungicidas, 2 mL das soluções estoque foram transferidos para erlenmeyers contendo 198 mL de BDA fundente, de forma que as concentrações finais, em ppm, fossem 100 vezes menores que as concentrações das soluções estoque, para cada um dos fungicidas testados. Após adição e homogeneização do fungicida no meio de cultura, o mesmo foi vertido sobre placas de Petri descartáveis, de 60x15 mm, esterilizadas. Após resfriamento e solidificação do meio de cultura, contendo as diferentes concentrações dos fungicidas, discos de cultura de 7 mm de diâmetro contendo micélio do fungo, provenientes de culturas com cinco a dez dias de idade foram colocados, com a face superior voltada para baixo, no centro de placas. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado e para cada tratamento (concentração x fungicida x isolado) foram utilizadas três repetições, sendo uma placa uma repetição. As placas foram

mantidas por três dias a 25 ± 2 °C, no escuro. Como testemunhas foram utilizadas placas contendo o meio BDA adicionado apenas de DMSO.

As avaliações consistiram da medição do diâmetro do crescimento do fungo nos diferentes tratamentos e na testemunha, após 72 horas de incubação, em dois sentidos perpendiculares.

4.5 Cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC)

De posse dos valores do crescimento micelial de cada um dos tratamentos e da testemunha foi calculado o PIC, com base na seguinte fórmula:

$$\text{PIC} = \frac{\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}}{\text{diâmetro da testemunha}} \times 100$$

4.6 Análise dos dados

4.6.1 Determinação da DE₅₀

Os valores do PIC, de cada uma das combinações fungicida/isolado, foram utilizados para determinar a equação de regressão, usando-se o procedimento GENMOD e, a partir desta foi calculada a DE₅₀ utilizando-se o procedimento IML do pacote estatístico SAS® v. 9.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados 108 isolados, sendo 46 para os fungicidas tifanato-metílico e procimidone, 41 para o fungicida ciproconazole, e 32 para os fungicidas clorotalonil, fludioxonil e propiconazole. Contudo, por *A. ricini* apresentar, muitas vezes, um crescimento desuniforme que impedia a obtenção das medidas radiais do crescimento, para os fungicidas ciproconazole, clorotalonil, fludioxonil, propiconazole e tiofanato-metílico, foi possível obter a DE₅₀ para apenas 5 isolados, enquanto que para o fungicida procimidone foi possível obter a DE₅₀ para 21 dos isolados avaliados.

Com base nos valores de DE₅₀ obtidos no presente estudo (Tabela 2) *A. ricini* foi considerado altamente sensível a todos os fungicidas testados uma vez que os valores observados foram inferiores a 1 ppm (EDGINGTON et al. 1971; KIMURA et al. 2001). É importante notar que os valores das DE₅₀ obtidos no presente estudo, para *A. ricini*, são muito próximos aos valores conhecidos para *B. cinerea* (LEROUX, 2007). Por exemplo, para os princípios ativos procimidone e fludioxonil as DE₅₀ para o crescimento micelial de *B. cinerea* são de 0,15 e 0,004 µg/ml, e para *A. ricini* foram de 0,18 e 0,003 µg/ml, respectivamente. Isso nos leva a concluir que a hipótese levantada inicialmente de que, com base nas afinidades filogenéticas e comportamento biológico, os fungicidas considerados altamente fungitóxicos para *B. cinerea* também seriam altamente fungitóxicos contra *A. ricini*, é verdadeira.

No presente estudo o clorotalonil, que afeta diretamente o metabolismo da respiração entre outros sítios ativos do fungo, apresentou uma DE₅₀ variando entre 0,1136 e 0,6613. Apesar de ter apresentado os maiores valores de DE₅₀, dentre os fungicidas testados, esse princípio ativo ainda foi classificado como altamente eficiente na inibição do crescimento micelial de *A. ricini*.

Chagas (2009), utilizando esse o mesmo princípio ativo, obteve DE₅₀ de 10-50 µg/ml indicando assim uma baixa eficiência de acordo com a escala de Edgington (1971). Embora os valores de DE₅₀ obtidos no presente estudo, para clorotalonil, estejam discrepantes daqueles observados por Chagas (2009), tais valores (0,35 µg/ml) são muito mais próximos aos observados para *Botrytis squamosa* em estudo conduzido por Tremblay et al. (2003), onde a DE₅₀ foi de 1,5 µg/ml. Adicionalmente, no estudo desenvolvido por Chagas (2009) foi utilizado apenas um isolado, enquanto no presente estudo foram utilizados 32 isolados de origens distintas. Diante disso, podemos inferir que os resultados aqui obtidos são,

provavelmente, mais representativos quanto à eficácia do clorotalonil em relação à inibição do crescimento micelial de *A. ricini* do que aqueles obtidos por Chagas (2009).

Tabela 2. Toxicidade de fungicidas quanto à inibição do crescimento micelial de *Amphobotrys ricini*.

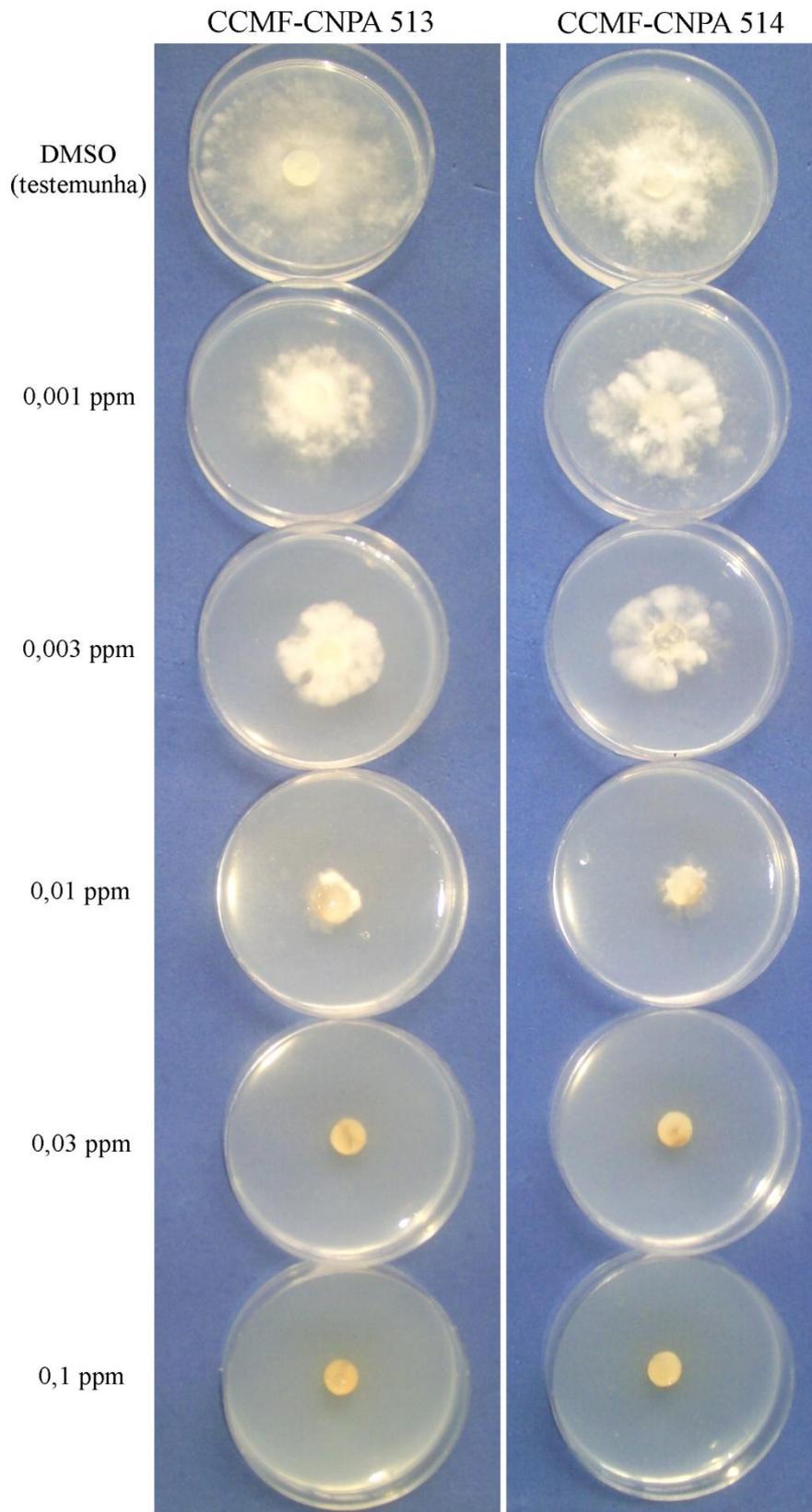
Fungicidas		DE ₅₀ (µg/ml)	Eficácia*	
Grupo Químico	Ingrediente ativo	Nome comercial	Média ± Desvio padrão	
Benzimidazóis	Tiofanato-metílico	Cercobin 500 SC	0,0873 ± 0,0496	AE
Dicarboximidas	Procimidone	Sumilex 100 WP	0,1809 ± 0,0860	AE
DMI	Ciproconazole	Alto 100	0,0183 ± 0,0081	AE
DMI	Propiconazole	Tilt	0,0440 ± 0,0356	AE
Fenilpirroles	Fludioxonil	Maxim	0,0031 ± 0,0022	AE
Cloronitrilo	Clorotalonil	Bravonil 500	0,3496 ± 0,2089	AE

* DE₅₀ <1 µg/ml = alta eficiência; 1-10 µg/ml = moderada eficiência; 10-50 µg/ml = baixa eficiência; >50 µg/ml = não fungitóxico (Edgington et al. 1971).

Dentre o grupo dos DMI's, embora ambos atuem na inibição da biosíntese do esterol, o ciproconazole apresentou uma DE₅₀ duas vezes menor que a DE₅₀ observada para propiconazole. Dessa forma podemos considerar que ciproconazole é mais efetivo na inibição do crescimento micelial de *A. ricini*, do que propiconazole, tal fato pode se dever a diferenças no modo de ação dos fungicidas em questão, uma vez que propiconazole atua na demetilação do C-14 durante a síntese do ergosterol, enquanto que ciproconazole atua provocando a ruptura das funções da membrana celular (PPDB 2013).

Dentre os fungicidas testados o fludioxonil, do grupo dos fenilpirroles, foi considerado o mais tóxico para *A. ricini*, com a DE₅₀ média de 0,0031 µg/ml. O fludioxonil é considerado um "botriticida", devido a sua alta eficácia contra diferentes espécies do gênero *Botrytis* (LEE, 2006). De acordo com Leroux (2007) a DE₅₀ média de fludioxonil para *B. cinera* é 0,004 µg/ml, enquanto que Korolev et al. (2010) encontrou a DE₅₀ média para os fenótipos sensíveis de 0,005 µg/ml. Esses valores são muito próximos aos obtidos para *A. ricini* no presente estudo (Tabela 2; Figura 1).

Figura 1. Inibição do crescimento micelial de dois isolados de *Amphobotrys ricini* cultivados em BDA, por 72 h no escuro, em diferentes doses de fludioxonil.

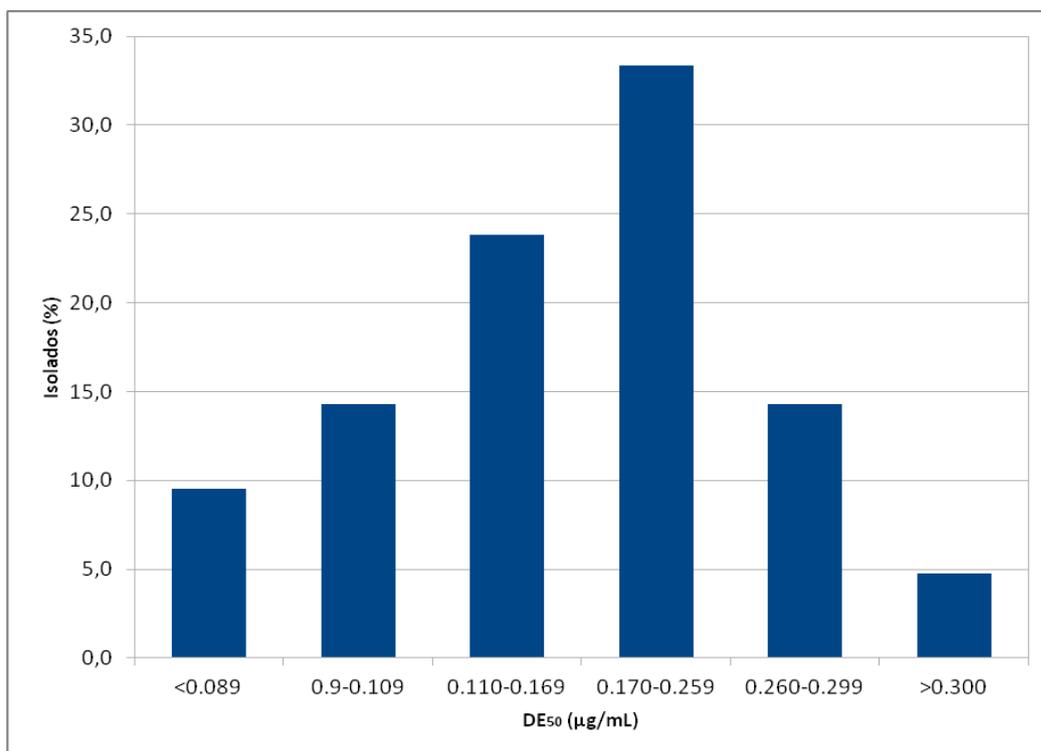


Para tiofanato-metílico, do grupo dos benzimidazóis, a DE₅₀ média foi de 0,0873 µg/ml indicando a alta eficiência do princípio ativo, de acordo com Edgington (1971). Segundo Chagas (2009), em seu trabalho não foi possível determinar a DE₅₀ para tiofanato-metílico, pois o composto apresentou 100% de inibição do crescimento micelial de *A. ricini* em todas as concentrações utilizadas nos ensaios, sendo possível apenas afirmar que a DE₅₀ ficou abaixo de 1 µg/ml. Tal comportamento observado por Chagas (2009) deveu-se ao fato de que o mesmo utilizou concentrações muito elevadas e com isso não foi possível estabelecer a equação de regressão para o cálculo da DE₅₀. Situação semelhante foi obtida por Prazeres (2011) com o fungicida tiofanato-metílico, para o qual não foi possível determinar a DE₅₀, devido ao fato de todas as concentrações utilizadas terem inibido 100% do crescimento micelial.

O tiofanato-metílico, não é tóxico por si só, sendo na verdade transformado para carbendazim, o qual interfere na armação da beta-tubulina para a formação dos microtubulos (RODRIGUES, 2006). Bezerra (2007) avaliou a sensibilidade de *A. ricini* ao princípio ativo carbendazim e obteve uma DE₅₀ de 0,168 µg/ml. No presente trabalho, tiofanato-metílico apresentou uma eficácia duas vezes maior (0,0873 µg/ml), o que demonstra que o fato do mesmo ter de ser transformado em carbendazim não interfere na sua eficácia, fato esse já conhecido (RODRIGUES, 2006).

Os resultados observados no presente estudo, em relação à eficácia do princípio ativo procimidone, do grupo das dicarboximidas, foram muito semelhantes aos conhecidos para *B. cinerea* (LEROUX, 2007) e aos encontrados por Chagas (2009). A DE₅₀ para *A. ricini*, variou de 0,0279 à 0,3125 µg/ml, sendo em média de 0,1809 µg/ml. De acordo com a escala de Edgington (1971), esse princípio ativo também foi considerado altamente eficiente na inibição do crescimento micelial de *A. ricini*. Além disso, os isolados testados apresentaram uma distribuição normal quanto a sua sensibilidade a esse princípio ativo (Figura 2) o que indica que, entre as populações dos diferentes locais amostrados, não há indícios do surgimento de resistência.

Figura 2. Distribuição da frequência de isolados de *Amphobotrys ricini* quanto à sensibilidade ao princípio ativo procimidone.



A determinação da sensibilidade básica de *A. ricini* aos fungicidas procimidone, tiofanato-metílico, clorotalonil, ciproconazole, propiconazole e fludioxonil é de grande importância para o manejo do mofo cinzento da mamoneira, porque poderá tanto subsidiar as empresas detentoras desses produtos, quanto orientar as autoridades competentes no registro dos mesmos para utilização no controle químico dessa importante doença. E, por último, mas não menos importante, poderá ser utilizada como base para futuros estudos de monitoramento do surgimento de resistência, evitando assim o uso indiscriminado de fungicidas e reduzindo o impacto ambiental da utilização dos mesmos.

6 CONCLUSÕES

- *Amphobotrys ricini* é altamente sensível aos princípios ativos tiofanato-metílico, procimidone, ciproconazole, propiconazole, fludioxonil e clorotalonil.

REFERÊNCIAS

ALFENAS, A.C; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. Ed. UFV, Viçosa, 2007

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2013. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Monografias+de+Agrotoxicos/Monografias+Excluidas>> Acesso em : 17 ago. 2013.

BATISTA, F. A. S.; LIMA, E. F.; SOARES, J. J.; AZEVEDO, A. M. P. **Doenças e pragas da mamoneira (*Ricinus communis* L.) e seu controle**. EMBRAPA - Algodão, [Circular Técnica 21], 56 p, Campina Grande, 1996.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei 7.802 de julho de 1989. **Diário Oficial da União Brasil**. Brasília, DF, 08 de jan. de 2002. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=515>>. Acesso em: 17 de ago. de 2013.

BRENT, K. J. **Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed?** Global Crop Protection Federation. FRAC, Monograph N° 1. Brussels, 1995.

BRENT, K. J.; HOLLOMON D. W. **Fungicide resistance: the assessment of risk**. Global Crop Protection Federation. FRAC, Monograph N° 2. Brussels, 1998.

BEZERRA, C. S. **Estrutura genética e sensibilidade a fungicidas de *Amphobotrys ricini*, agente causal do mofo cinzento da mamoneira**. Natal, RN, 2007. 47 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

CHAGAS, H.T. **Controle de mofo-cinzento *Aphobotrys ricini* da mamoneira *Ricinus communis* L. por métodos químico, biológico e com óleos essenciais**. Botucatu, SP, 2009. 78 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”,

DELEN, N.; TUSON, N. **Fungicidas: mecanismos de ação e resistência. Parte 1: Fungicidas com mecanismos de ação não específica.** RAPP, Passo Fundo, RS, v. 11, p. 43-69, 2003.

_____. **Fungicidas: mecanismos de ação e resistência. Parte 2: Fungicidas com mecanismos de ação específica.** RAPP, Passo Fundo, RS, v. 12, p. 27-90, 2004.

DELP, C. J. **Coping with resistance to plant disease.** Plant Disease, Wilmington, DE, v. 64, n. 7, p. 652-657, 1980.

EDGINGTON, L. V.; KHEN K. L.; BARRON, G. L. **Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds.** Phytopathology, Canada, v. 61, n. 1, p. 42-44, January 1971.

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

GODFREY, G.H. **Gray mold of castor bean.** Journal of Agricultural Research, Washington, v. 23, n. 9, p. 679-716, 1923.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – LSPA. Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil.** Rio de Janeiro v. 25, n.12, p. 1-84, dez. 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201212.pdf>. Acesso em: 17 jan. 2013

JULIATTI, F. C.; **Modo de ação dos fungicidas,** 2005. Disponível em: <[http://www.ipni.net/ppiweb/pbrazil.nsf/926048f0196c9d4285256983005c64de/4d4c7e5503f5a2c503256fdd004c4a8f/\\$FILE/Anais%20Fernando%20Juliatti.pdf](http://www.ipni.net/ppiweb/pbrazil.nsf/926048f0196c9d4285256983005c64de/4d4c7e5503f5a2c503256fdd004c4a8f/$FILE/Anais%20Fernando%20Juliatti.pdf)>. Acesso: 05 fev. 2013

KIMATI, H. Controle Químico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L.. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos v.1,** 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 761-785.

KIMURA, M.K.; SOUZA, P. E.; CASTRO, H. A. **Sensibilidade in vitro de *Botrytis cinera* a fungicidas**. Ciênc. Agrotec, Lavras v. 25, n. 5, p. 1150-1160, 2001.

KOROLEV, N.; MAMIEV, M.; ZAHAVI, T.; ELAD, Y. **Screening of *Botrytis cinerea* isolates from vineyards in Israel for resistance to fungicides**. European Journal of Plant Pathology, Israel, v.129, n. 4, p. 591-608, 28 2010.

LAMONDIA, J. A.; DOUGLAS, S. M. **Sensitivity of *Botrytis* from Connecticut greenhouses to benzimidazole and dicarboximide fungicides**. Plant Disease, Windsor, v. 81 n. 7, p. 729-732, 1997.

LEE, M. L. **Baseline sensitivity of *Botrytis elliptica* to fludioxonil in Taiwan**. Plant Protection Bulletin, Taiwan, v. 48, n. 2, p. 163-171, 2006.

LEROUX, P. **Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides**. In: ELAD Y.; WILLIAMSON, B.; TUDZYNSKI, P.; DELEN, N. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, Springer, p.195-222. The Netherlands, 2007.

LIMA, E. F.; ARAÚJO, A. E.; BATISTA, F. A. S. **Doenças e seu controle**. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Eds) *O agronegócio da mamona no Brasil*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 191-212.

MASSOLA JUNIOR, N. S.; BENDEDO, I. P. **Doenças da mamoneira (*Ricinus communis* L.)**. In: KIMATI, H.; AMORIM, L. BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. V. 2, 3ª. ed. SP: Agronômica Ceres, 1997. p. 497 - 500.

MICHEREFF, S. J.; **Fundamentos de fitopatologia; controle químico de doenças de plantas**. Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2001. Disponível em: <<http://www.ccta.ufcg.edu.br/admin.files.action.php?action=download&id=2084>>. Acesso em: 22 jul. 2013

MILANI, M.; NÓBREGA, M. B. M.; SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. **Resistência da mamoneira (*Ricinus communis*) ao mofo cinzento causado por *Amphobotrys ricini*.** Documentos n. 137 p. 24. Embrapa Algodão, Campina Grande – PB. Outubro, 2005.

PRAZERES, A. G.; **Controle químico e caracterização molecular do mofo cinzento (*Amphobotrys ricini*) associado aos caracteres agrônômicos da mamoneira.** Cruz das Almas, BA, 2011. 115 p. Tese de (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,

PPDB (2013) **The Pesticide Properties Data Base (PPDB)** developed by the Agriculture and Environment Research Unit (AERU), University of Hertfordshire, funded by UK National sources and through EU-funded projects, 2006-2013. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/index.htm>>. Acesso em: 22 jul. 2013.

RODRIGUES, M. A. T. **Classificação de fungicidas de acordo com o mecanismo de ação proposto pela FRAC.** Botucatu, SP, 2006. 291 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

SEVERINO, L. S.; AULD, D. L.; BALDANZI, M.; CÂNDIDO, M. J. D.; CHEN, G.; CROSBY, W.; HE, X.; LAKSHMAMMA, P.; LAVANYA, C.; MACHADO, O. T. L.; MILANI, M.; MIELKE, T.; MILLER, T. D.; MORRIS, J. B.; NAVAS, A. A.; SOARES, D. J.; SOFIATTI, V.; TAN, D.; WANG, M.L.; ZANOTTO, M. D.; ZIELER, H. **A review on the challenges for increased production of castor.** Agronomy Journal, Madison, v. 104, n. 4, p. 853-880, 2012.

SEVERINO, L. S.; LIMA, R. L. S.; ALBUQUERQUE, R. C.; BELTRÃO, N. E. M.; SILVA, M. I. L. **Casca e torta da mamona avaliadas em vasos como fertilizantes orgânicos.** Embrapa Algodão Boletim de pesquisa e desenvolvimento 83 p. 16, Campina Grande, Julho, 2007.

SOARES, D.J. **Gray mold of castor: a review.** In: CUMAGUN, C. J. R. (Ed.). Plant Pathology. InTech Publishing: Rijeka, v. 23, n. 9, p. 219-240, 2012.

SUSSEL, A. A. B. **Epidemiologia e manejo do mofo cinzento da mamoneira**. Documentos 241, p. 25. Embrapa Cerrados, Planaltina – DF. Fevereiro, 2009,

TREMBLAY, D. M.; TALBOT, B. G.; CARISSE, O. **Sensitivity of *Botrytis squamosa* to different classes of fungicides**. Plant Disease, Canada, v. 87, n. 5, p. 573-578, 2003.

WHO - World Health Organization. Food and agriculture organization of the United Nations. Fiches FAO/OMS D'information sur les pesticides. N. 87, Benomyl, 1994. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/63082/1/WHO_PCS_DS_94.87_fre.pdf>. Acesso em: 17 ago.