

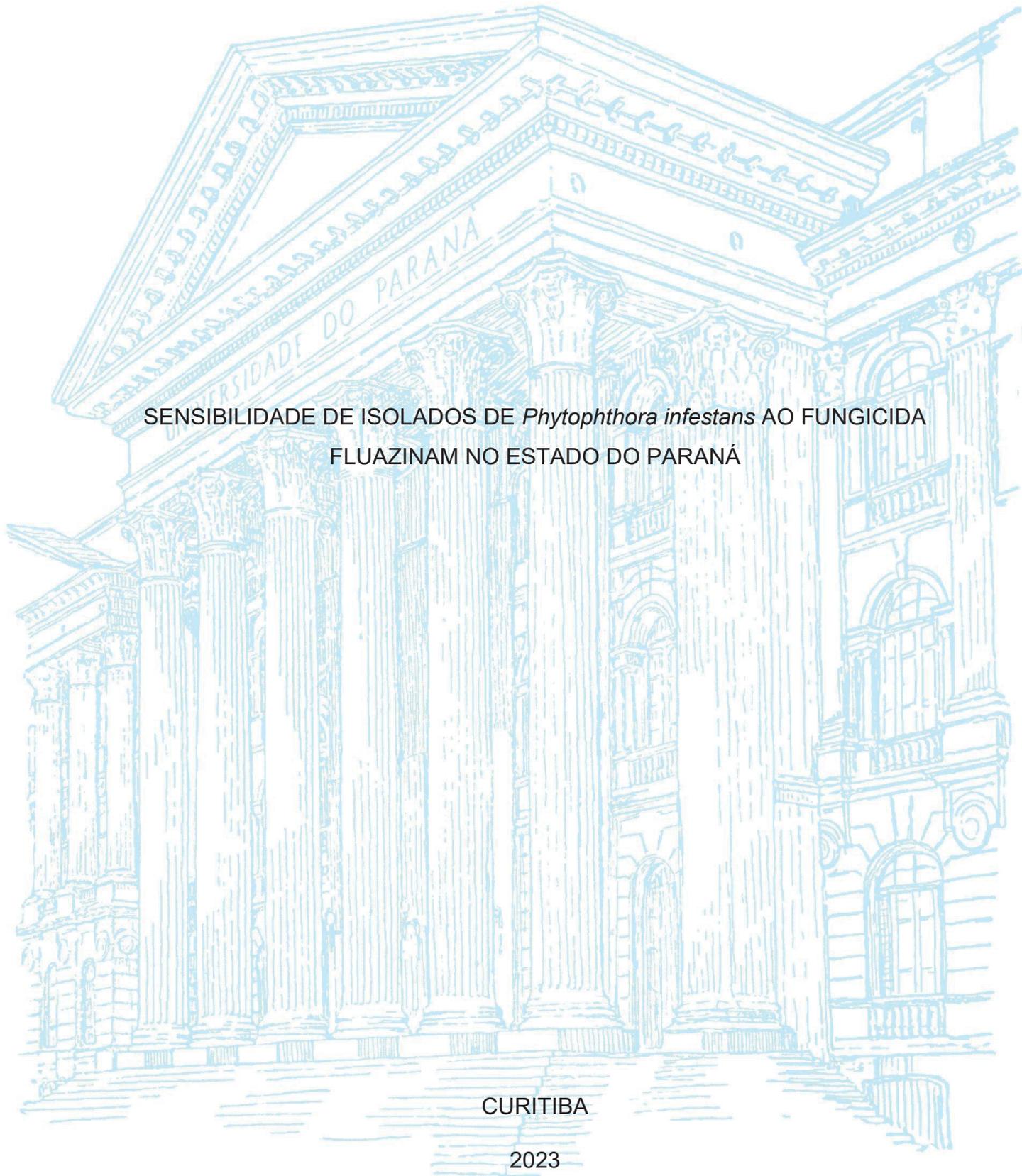
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FRANCIELI BIERNASKI

SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Phytophthora infestans* AO FUNGICIDA
FLUAZINAM NO ESTADO DO PARANÁ

CURITIBA

2023



FRANCIELI BIERNASKI

SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Phytophthora infestans* AO FUNGICIDA
FLUAZINAM NO ESTADO DO PARANÁ

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título do grau de Especialista em Fitossanidade.

Orientador: Me. Gabriel Koch

CURITIBA

2023

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder a sabedoria, saúde e forças para permanecer confiante durante toda a trajetória.

Ao meu orientador, Me. Gabriel Koch, por me acompanhar durante todo o desenvolvimento deste trabalho, pela dedicação e por todo o conhecimento compartilhado.

À minha família, por sempre me apoiar, incentivar e ser o meu alicerce durante todo o processo, especialmente aos meus pais, por me concederem a vida e permanecerem comigo me dando suporte em todos os momentos.

Aos professores do curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Fitossanidade, por todo o conhecimento transmitido ao longo da realização desta especialização.

À Universidade Federal do Paraná e ao PECCA, por me conceder a oportunidade de realizar esta Pós-Graduação.

RESUMO

Com uma produção de 3,8 milhões de toneladas por ano, a cultura da batata se destaca por ser a olerícola de maior importância agrícola no Brasil e no mundo. Para garantir altas produtividades, o uso de fungicidas ao longo do ciclo da batata são essenciais, visto que são inúmeras as doenças que acometem este cultivo. A requeima, causada pelo oomiceto *Phytophthora infestans*, é uma das principais doenças que incidem sobre os plantios da batata. Sendo caracterizada como destrutiva e de difícil controle, esta doença pode dizimar lavouras em curto período de tempo se medidas preventivas não forem tomadas, apresentando custo elevado para o produtor. Neste caso, o uso de fungicidas é a melhor e mais utilizada estratégia para manejar o agente causal, entretanto, seu uso excessivo e inadequado pode acarretar em perda de sensibilidade de isolados a campo, devido à alta pressão de seleção. Com isso, este trabalho teve o objetivo de avaliar a sensibilidade de isolados de *Phytophthora infestans* coletados em diferentes regiões do estado do Paraná, no período de 2021 a 2022, ao fungicida fluazinam. A sensibilidade ao fungicida foi determinada por ensaios *in vivo* de concentração efetiva 50% (CE50) com as doses 0,0; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 10 e 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para 10 isolados monoesporangiais selecionados. Os valores de CE50 encontrados para o fungicida fluazinam variaram de 0,01 a 13,82 $\mu\text{g mL}^{-1}$, sendo que a maioria dos isolados avaliados foram considerados sensíveis de acordo com os resultados observados. Além disso, os altos valores encontrados de CE50 geram um alerta para o fato de que este produto possa estar perdendo sua eficiência no campo, devido à possíveis fontes de resistência do patógeno.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*; Requeima; Sensibilidade; Fluazinam.

ABSTRACT

With a production of 3,8 million tons per year, potato (*Solanum tuberosum* L.) is the most important vegetable crop in Brazil and in the world. To ensure high yields, the use of fungicides throughout the potato cycle is essential, since there are many diseases affecting this crop. Potato late blight, caused by the oomycete *Phytophthora infestans*, is one of the main diseases affecting potato crops. Being characterized as destructive and difficult to control, this disease can decimate crops in a short period of time if preventive measures are not taken. In this case, the use of fungicides is the best and most used strategy to manage the causative agent, however, its excessive and inadequate use can lead to loss of sensitivity of isolates in the field, due to the high selection pressure. Thus, this work aimed to evaluate the sensitivity of *Phytophthora infestans* isolates collected in different regions of Paraná state, in the period from 2021 to 2022, to the fungicide fluazinam. The sensitivity to the fungicide was determined by *in vivo* tests of effective concentration 50% (EC50) with the doses 0,0; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 10 and 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for 10 selected monospore isolates. The EC50 values found for the fungicide fluazinam ranged from 0,01 to 13,82 $\mu\text{g mL}^{-1}$, and most of the isolates evaluated were considered sensitive according to the results observed. In addition, the high EC50 values found generate an alert to the fact that this product may be losing its efficiency in the field, due to possible sources of resistance of the pathogen.

Key-words: *Solanum tuberosum*; Potato late blight; Sensitivity; Fluazinam.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.1 A CULTURA DA BATATA E SUA IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	8
2.2 EXIGÊNCIAS CLIMÁTICAS	11
2.3 DOENÇAS NA BATATA	11
2.3.1 Requeima da batateira	12
2.3.1.1 Estratégias de controle e resistência à fungicidas	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5 CONCLUSÕES	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

1 INTRODUÇÃO

Ocupando uma área de 116,4 milhões de hectares, a cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) expressa grande importância para o cenário agrícola brasileiro, especialmente por ser a espécie olerícola mais cultivada no país. Neste cenário, os estados de Minas Gerais, Paraná e São Paulo se destacam na produção nacional, sendo responsáveis pelo fornecimento de 69% do vegetal no país (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2022).

O estado do Paraná já foi um dos maiores produtores de batata do país, com cerca de 70% da produção concentrada na região metropolitana de Curitiba na década de 90. Com o passar dos anos, a cadeia produtiva da olerícola avançou pelo estado, apresentando grande diferença ao se tratar do nível de tecnologia, tamanho da propriedade e cultivares utilizadas (SCOTTI e NAZARENO, 2000). De modo geral, as regiões de Guarapuava, Castro e São Mateus do Sul se caracterizam por serem grandes áreas produtivas, com alta utilização de insumos, mecanização e maior produtividade (25-35 t/ha), ao contrário de produtores familiares que predominam na região metropolitana de Curitiba. O plantio da cultivar Ágata é o que predomina no estado, por se tratar de um produto com maior preço de mercado e boa produtividade, apesar de ser mais sensível ao ataque de pragas e doenças (NAZARENO e JACCOUD FILHO, 2003).

São inúmeras as doenças que acometem a cultura da batata, sendo estas geralmente relacionadas a um agente etiológico, que pode ser um fungo, vírus, bactéria, oomiceto ou nematoide. Dentro do grupo dos oomicetos, uma das principais doenças que acometem a cultura é a requeima. *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary é o agente etiológico que causa a requeima da batateira, também conhecida como mela. Trata-se de uma doença policíclica, severa e altamente destrutiva, capaz de dizimar lavouras em curto período de tempo (KUROZAWA E PAVAN, 1977). No Brasil, o primeiro relato desta doença na cultura da batata ocorreu no ano de 1898, conforme descrito por Niederhauser (1995), atribuída à introdução de batata-semente proveniente da Europa.

Dentre as medidas de controle da requeima, a aplicação de fungicidas é a mais utilizada entre os produtores convencionais e também a mais eficiente (COOKE et al.,

2011). Entretanto, no Brasil a batata é cultivada em regiões propícias para o desenvolvimento da requeima, fato que é agravado ao se realizar o plantio com cultivares suscetíveis, como a Ágata por exemplo. Apesar da cultura da batata estar muito bem adaptada ao estado do Paraná, a necessidade do controle químico no manejo de doenças ainda é muito intensa. Em levantamento realizado há uma década, o número de aplicações variava de 8 a 23 por safra em sistema convencional (NAZARENO et al., 1995), fato que ainda perpetua em muitas propriedades. Diante disso, o risco de seleção de isolados resistentes a fungicidas é agravado, especialmente daqueles que possuem mecanismo de ação mais específico (REIS et al., 2002).

Dentre os fungicidas comumente utilizados para o controle deste patógeno na cultura da batata está o fluazinam. Se trata de um produto sítio-específico que atua principalmente na respiração do fungo, impedindo a oxidação fosforilativa e promovendo inibição da produção de energia, o que leva à morte das células do fungo (TÖFOLI et al., 2013; LIANG et al., 2015). O risco de resistência do fungicida fluazinam é considerado baixo pelo Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas (FRAC), entretanto, *Phytophthora infestans* é considerado um patógeno com alto risco de desenvolver redução de sensibilidade aos fungicidas.

Considerando o exposto acima, o presente trabalho objetivou analisar a sensibilidade de isolados de *Phytophthora infestans* coletados em diferentes regiões do estado do Paraná, no período de 2021 a 2022, ao fungicida fluazinam.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DA BATATA E SUA IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

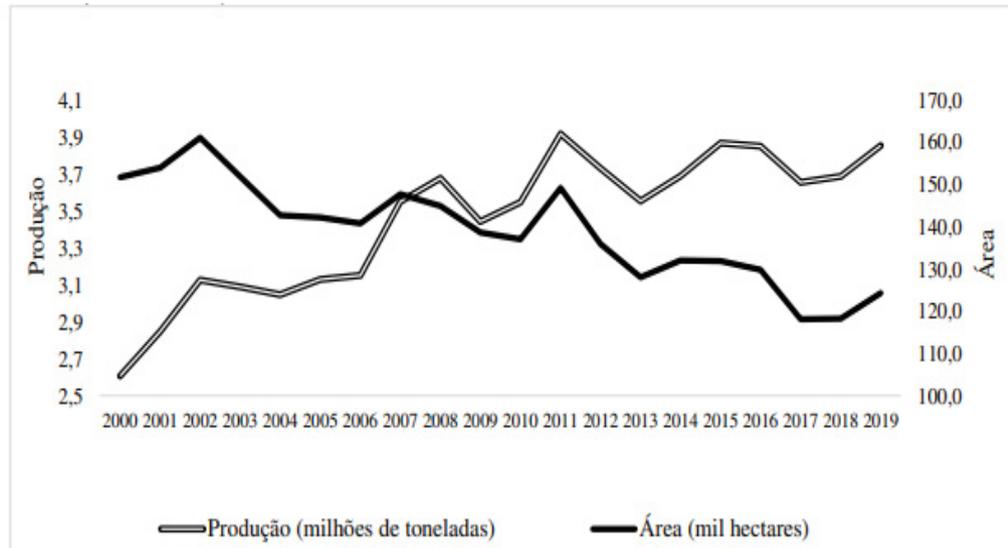
A batata (*Solanum tuberosum* L.) é a cultura olerícola mais importante no Brasil, com produção anual de 3,8 milhões de toneladas, em uma área de 116.428 hectares. O estado de Minas Gerais é o maior produtor de batata do país, responsável por aproximadamente 34% da produção. Na sequência do ranking, aparece o estado do Paraná, com 20%, e São Paulo, com 15% da produção nacional na safra de 2021 (IBGE, 2022).

Esta cultura representa enorme importância para o planeta, já que é considerada a primeira commodity não grão e a terceira cultura alimentar mais importante no mundo (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, 2021). A produção mundial desta olerícola já chegou a 368 milhões de toneladas no ano de 2018, em uma área de 17,58 milhões de hectares. Neste cenário, a China entra como o maior produtor mundial de batata, fornecendo 90,32 milhões de toneladas em 4,81 milhões de hectares (FAOSTAT, 2020).

Grande parte da produção de batata segue sendo comercializada *in natura*, apenas uma pequena parte é destinada para processamento industrial, aproximadamente 10% do total. Para suprir toda a demanda nacional, tecnologias vêm sendo implantadas para possibilitar aumento na produtividade, principalmente no melhoramento genético de cultivares e na qualidade das sementes produzidas (EMBRAPA, 2021).

Apesar da redução de área produtiva ao longo dos anos, a produtividade brasileira aumentou 28,1% nos últimos 10 anos, segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) (EMBRAPA, 2021), fato que pode ser observado na figura 1. Em 2018, a produtividade nacional atingiu 31 toneladas por hectare, superando a produtividade média mundial de batata: 20,94 toneladas por hectare, ficando para trás de países super desenvolvidos como Estados Unidos (50 t/ha), Canadá (43 t/ha), França (39 t/ha) e outros (FAOSTAT, 2020).

FIGURA 1. PRODUÇÃO TOTAL E ÁREA CULTIVADA (MILHÕES DE TONELADAS) DE BATATA NO BRASIL (2000-2019).



Fonte: MARCOMINI (2021).

2.2 CARACTERÍSTICAS DA PLANTA

A batata é uma planta dicotiledônea, pertencente ao gênero *Solanum* e família *Solanaceae*. Esta é nativa da América do Sul, mais especificamente da Cordilheira dos Andes, e começou a ser consumida por volta de 8.000 anos atrás por populações nativas do local. Sua introdução na Europa aconteceu em meados de 1570, e mais tarde, por volta de 1620, esta cultura chegou à América do Norte, onde se popularizou o seu consumo e se disseminou para outras regiões (EMBRAPA, 2021).

A batata é uma planta herbácea que produz tubérculos, que são porções de caules modificados produzidas para reserva de carboidratos, semelhante às raízes, porém com engrossamento na extremidade dos estolões. Os tubérculos consistem no produto final desejado, utilizado como alimento, e também para reprodução, utilizado como semente no início de um novo cultivo (ZAMBOLIM, 2000).

A flor da batata possui 5 pétalas em forma de estrela e corola gamopétala, possuindo aproximadamente 4 centímetros de diâmetro. Existem diversas cultivares de batata, onde cada uma pode apresentar uma flor com coloração diferente, desde branca, rosa, vermelha, azul a roxa. No geral, cada flor possui cinco anteras com 7 a

9 mm de comprimento ao redor no pistilo. O tipo de agrupamento das flores é a inflorescência, possuindo geralmente mais de 10 flores. Na batata ocorre autofecundação, onde o androceu e o gineceu amadurecem em tempos semelhantes e geram o fruto (EMBRAPA, 2021).

Os frutos da batata são biloculares do tipo baga, apresentam de 2 a 3 cm de diâmetro e coloração verde. Esta planta pode produzir de 40 a 240 sementes por fruto, entretanto, esta não é uma forma de propagação, o que se utiliza em áreas produtivas é a propagação vegetativa através dos tubérculos (clones) (EMBRAPA, 2021).

As folhas são compostas, unindo vários folíolos a um pecíolo. O caule pode ter secção circular, quadrangular ou triangular e apresentar ramificações saindo próximo à haste principal (que sai diretamente do tubérculo). O sistema radicular prevalece em 40 a 50 centímetros de solo, da batata-semente são emitidas raízes adventícias nos nós do caule subterrâneo. Por fim, há os estolões, que são caules subterrâneos adaptados para formação de tubérculos em sua extremidade, quando em condições adequadas de ambiente e balanço hormonal e fisiológico da planta equilibrados (EMBRAPA, 2021).

A batateira possui ciclo fenológico que pode ser dividido em cinco fases:

I – Brotação à pré-emergência: inicia-se o desenvolvimento dos brotos a partir da batata semente e emergência do solo, enquanto as raízes começam a se desenvolver; esta fase dura de 3 a 6 dias quando as condições ambientais são favoráveis.

II – Crescimento vegetativo: ocorre desenvolvimento acentuado da parte aérea, ao mesmo tempo que as raízes e estolões se desenvolvem; esta fase permanece por 15 a 30 dias, dependendo da cultivar e condições ambientais do local.

III – Início da tuberização: inicia-se a formação dos tubérculos nas extremidades dos estolões, onde os fotoassimilados produzidos na parte aérea são encaminhados para reserva na forma de amido dentro dos tubérculos; esta fase dura de 10 a 15 dias.

IV – Crescimento dos tubérculos: o crescimento vegetativo é interrompido, enquanto ocorre o engrossamento dos tubérculos pelo acelerado acúmulo de amido.

V – Maturação: a matéria seca acumulada nos tubérculos atinge o nível máximo, as folhas se tornam amareladas e secam, enquanto se torna mais firme a película dos tubérculos (EMBRAPA, 2021).

2.2 EXIGÊNCIAS CLIMÁTICAS

As condições edafoclimáticas necessárias para uma boa produção da batata exigem fotoperíodos curtos e temperaturas amenas durante o crescimento. De forma geral, a temperatura ideal para o cultivo da batata é de 12°C a 20°C, para que a tuberização seja abundante as temperaturas amenas são determinantes (FOHNER et al., 1984).

O fotoperíodo é um fator importante para a boa produção de batatas, de modo geral, noites mais longas favorecem a tuberização, logo, a batata pode ser considerada uma planta de dias curtos. Geralmente em fotoperíodos curtos as plantas apresentam tuberização e produção mais precoce, estolões curtos e hastes menores, enquanto em fotoperíodos longos ocorre florescimento, maior quantidade de hastes laterais e folhas, estolões maiores e tuberização mais tardia, com isso o ciclo é maior e a produção acaba sendo retardada (FIGUEIREDO-RIBEIRO; CHU; ALMEIDA, 2004). Entretanto, cada cultivar apresenta um fotoperíodo crítico e é importante que o produtor possua conhecimento deste comportamento para a determinada região e época de cultivo.

A batateira é uma cultura bastante sensível à falta de água, períodos de estiagem podem comprometer grandes produtividades da lavoura. A demanda de água pela cultura varia conforme a cultivar, sistema de cultivo adotado e condições climáticas da região. De forma geral, a necessidade de água pela cultura está dentro da faixa de 250 a 550 milímetros, podendo ultrapassar esta quantidade em regiões muito quentes e secas, necessitando de irrigação (EMBRAPA, 2021).

2.3 DOENÇAS NA BATATA

Os problemas com doenças em culturas agrícolas têm sido mais recorrentes a cada ano, fato que pode ser explicado devido às extensas áreas de monocultura, ocorrência de resistência à fungicidas, deficiência na rotação de culturas, e outras razões. Este é um fator que preocupa muito os produtores que acabam tendo gastos elevados para o controle de doenças, principalmente quando as condições climáticas

se tornam favoráveis para o desenvolvimento de determinados patógenos de oneroso controle.

São inúmeras as doenças que incidem sobre a cultura da batata, sendo aquelas causadas por fungos e bactérias as mais comuns de ocorrer. Dentre as doenças bacterianas que comumente acometem a batata e causam prejuízos à produção estão: canela preta (*Pectobacterium* e *Dickeya*), murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*), podridão anelar (*Clavibacter sepedonicum*) e sarna bacteriana (*Streptomyces* spp.). Além das doenças bacterianas, diversos fungos e oomicetos acometem esta cultura, tais como: requeima ou mela da batateira (*Phytophthora infestans*), pinta preta (*Alternaria* spp.), rizoctoniose (*Rhizoctonia solani*), sarna prateada (*Helminthosporium solani*), sarna pulverulenta (*Spongospora subterranea*) e outras (TÖFOLI; DOMINGUES, 2013).

2.3.1 Requeima da batateira

A requeima é uma preocupante doença da batateira, causada pelo oomiceto *Phytophthora infestans*, apresenta potencial de prejudicar lavouras de batata drasticamente e em curto período de tempo quando as condições se apresentam favoráveis: alta umidade e temperaturas amenas (CHMIELARZ, 2005; DUARTE, 2012).

Esta doença tem papel histórico por causar a Grande Fome da Irlanda, no período de 1845 a 1849, onde causou a morte e imigração de milhares de pessoas para fora da Europa após dizimar inúmeras lavouras de batata (ZADOKS, 2008). Embora grandes avanços no manejo desta doença foram obtidos desde então, a requeima continua sendo uma doença severa que impacta significativamente campos produtivos de batata, afetando diretamente o rendimento desta importante base alimentar (TÖFOLI; DOMINGUES, 2020).

Phytophthora infestans (Mont.) De Bary é o agente etiológico responsável por causar uma das principais doenças da batateira, conhecida como requeima ou mela. Este fitopatógeno pertence ao Reino Stramenopila, Filo Oomycota, Ordem Peronosporales e Família Peronosporaceae. Suas características morfológicas são bastante semelhantes às de um fungo, porém apresentam diferenças na constituição

da parede celular, mitocôndria, síntese de compostos, forma de ploidia e outras características (TRIGIANO; AMENT; LAMOUR, 2010).

Trata-se de um microrganismo isento de pigmentos fotossintéticos, diplóide, com parede celular constituída por celulose e outras glucanas, não possui a capacidade de sintetizar o próprio esterol e tiamina, necessitando do hospedeiro para adquirir estes compostos. *P. infestans* possui crescimento micelial característico do tipo cenocítico (sem septos), com produção de esporos chamados esporângios. Os esporângios são hialinos, globulosos e papilados, produzidos por esporangióforos que apresentam ramificação simpodial, os quais geralmente emergem pelos estômatos. Em condições específicas, podem formar-se os zoósporos (esporos móveis) no interior dos esporângios, os quais possuem dois flagelos e assim tornam-se capazes de se deslocar mais facilmente em água (DRENTH et al., 1993).

P. infestans pode apresentar reprodução assexuada ou sexuada. As estruturas assexuadas são basicamente os esporângios e zoósporos. Já a reprodução sexuada pode ocorrer de duas maneiras: com linhagens homotáticas (auto férteis) ou heterotáticas. Enquanto as linhagens homotáticas conseguem se reproduzir através de um mecanismo de auto fertilidade, as heterotáticas necessitam de dois grupos distintos de compatibilidade: A1 e A2, ambos coexistindo no mesmo local, de forma a permitir a troca de material genético. A reprodução sexuada gera esporos com parede mais espessas e adaptados para resistir a condições adversas do ambiente, e consequentemente, são originadas linhagens mais agressivas, com maior variabilidade genética e menos sensíveis a fungicidas (GOODWIN, 1977).

Os sintomas causados pela requeima são primeiramente visualizados nas folhas da batateira, sendo caracterizados por manchas de coloração verde clara a escura, com aspecto úmido e tamanho variável. Com o tempo, essas manchas se tornam negras, necróticas e irregulares, podendo apresentar ou não um halo clorótico ao redor. É comum visualizar o crescimento micelial do oomiceto na face inferior do tecido com sintoma, possuindo aspecto branco acinzentado e aveludado. No micélio é onde são produzidos os esporângios do patógeno, que são gerados em condições de alta umidade e temperatura em torno de 12°C a 20°C. Ao atingir brotos e gemas apicais no ponteiro da planta, a doença paralisa o crescimento da mesma. Nos caules e pecíolos, os sintomas se caracterizam por lesões pardo-escuras a negras e alongadas, podendo causar a morte dos órgãos acima ao ponto de infecção. Já nos

tubérculos, as lesões são superficiais, castanhas e irregulares, com bordos definidos, podendo atingir o interior e apresentar manchas castanho-avermelhadas e necrose assimétrica do tecido (TÖFOLI; DOMINGUES, 2020).

Na reprodução assexuada os esporângios germinam quando em temperatura de 18°C a 24°C, e a produção de zoósporos flagelados pode ocorrer em temperatura de 12°C a 17°C. Em geral, cada esporângio tem a capacidade de produzir 8 zoósporos quando em condição favorável, aumentando significativamente a quantidade de inóculo e severidade da infecção (TÖFOLI; DOMINGUES, 2020).

Na reprodução sexuada, ocorre a formação do anterídio e oogônio, que são os gametângios masculinos e femininos, respectivamente. A meiose ocorre nestes gametângios, originando um tubo de fertilização onde é transmitido um único núcleo haplóide para o oogônio, ocorrendo a fusão e formação de um único oósporo. Após liberados, esses oósporos podem vir a germinar e produzir novos esporângios, que são liberados e originam novas infecções (MIZUBUTI; FRY, 2006).

Após a infecção do esporo no tecido, a colonização é extremamente rápida, podendo o período de incubação (tempo para aparecimento dos primeiros sintomas) levar de 48 a 72 horas apenas. Períodos de molhamento foliar superior a 12 horas e ambientes de névoa favorecem em muito o desenvolvimento da doença, pela presença constante de umidade e temperaturas amenas (MIZUBUTI; FRY, 2006).

Além da batata, *P. infestans* possui outros hospedeiros, como as culturas do tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pimentão (*Capsicum annuum* L.) e berinjela (*Solanum melongena* L.). Além disso, a requeima pode também infectar plantas invasoras como o picão branco (*Galinsoga parviflora* Cav), corda de viola (*Ipomea purpurea* L.), maria-pretinha (*Solanum americanum* L.), joá de capote (*Physalis angulata* L.) e outros. Portanto, para evitar a disseminação desta doença é importante eliminar da área os hospedeiros alternativos, já que estes atuam como local de sobrevivência do patógeno e fonte de inóculo (TÖFOLI; DOMINGUES, 2020).

Apesar do uso de fungicidas ser o mais utilizado, é importante também priorizar ações no manejo da cultura, de forma com que se permita reduzir a grande pressão de produtos químicos sobre as doenças. O manejo da requeima deve ser executado por meio de medidas integradas de controle, como: utilizar batata-semente sadia no plantio; evitar locais com alta umidade e próximas de áreas em final de ciclo; eliminar

plantas que possam ser hospedeiras da doença; desinfetar equipamentos utilizados em áreas contaminadas; realizar o monitoramento antes da tomada de decisão; buscar cultivares com certo nível de resistência, como: Itararé, BRS Clara, IAPAR Cristina, Monte Alegre 172, Ibituaçu, e outras (EMBRAPA, 2021).

2.3.1.1 Estratégias de controle e resistência à fungicidas

Como estratégia de controle da requeima, o emprego do controle químico com fungicidas de ação sistêmica e de contato é o mais utilizado, seguindo geralmente um calendário de aplicação (COOKE et al., 2011). Entretanto, a utilização intensiva e indiscriminada de fungicidas acarreta na redução da sensibilidade de isolados, contribuindo para a seleção de populações resistentes à determinadas moléculas (ZAMBOLIM; VENÂNCIO; OLIVEIRA, 2007).

Atualmente, são inúmeros os produtos químicos registrados junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle da requeima. Alguns dos fungicidas comumente utilizados para o controle deste patógeno na cultura da batata no Brasil são os produtos à base de dimetomorfe, metalaxil-M, cimoxanil, famoxadona e fluazinam (TÖFOLI et al., 2013).

O fluazinam é um fungicida sítio-específico que pertence ao grupo químico fenilpiridinilamina (grupo C5 do FRAC), atuando principalmente na respiração do fungo, impedindo a oxidação fosforilativa e promovendo inibição da produção de ATP (energia), o que leva à morte das células do fungo. Este produto é considerado tópico ou imóvel na planta, apresentando maior efeito protetor e bom efeito residual (TÖFOLI et al., 2013; LIANG et al., 2015).

O risco de resistência do fungicida fluazinam é considerado baixo pelo Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas (FRAC), até então foi registrado apenas uma ocorrência de resistência a esta molécula em *Botrytis cinerea*, no Japão (TAMURA, 2000). Na cultura da batata, *Phytophthora infestans* é considerado um patógeno com alto risco de desenvolver redução de sensibilidade a fungicidas. Ainda não há registro de resistência ao fungicida fluazinam para este patógeno no Brasil, entretanto, já há relatos de uma linhagem de *P. infestans* apresentando redução de eficácia no controle

da requeima em campos experimentais com alta pressão da doença (SCHEPERS et al., 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados avaliados neste trabalho foram coletados no período de janeiro de 2021 a julho de 2022, foram obtidos 11 isolados de *P. infestans* provenientes de folhas de batata, coletados em lavouras comerciais de 6 cidades do estado do Paraná (descritos na tabela 1). As plantas coletadas apresentavam lesões castanhas, irregulares e com aspectos de úmido nas folhas, semelhantes aos sintomas descritos para a requeima. As mesmas foram identificadas com o nome da propriedade e data da coleta, e organizadas em pacotes plásticos para transporte e conservação das amostras. Ao chegar ao Setor de Ciências Agrárias (UFPR), as amostras foram fotografadas, como forma de registro, e armazenadas em geladeira no Laboratório de Epidemiologia de Manejo Integrado de Plantas (LEMID) no Departamento de Fitossanidade da Universidade.

O isolamento do patógeno foi feito pelo método indireto, transferindo estruturas do patógeno, com auxílio de lupa e agulha flambada, para placas de Petri contendo meio de centeio ou V8. Para todos os isolados avaliados neste trabalho foi realizado o cultivo monoesporangial, de forma a reduzir a variabilidade de indivíduos.

A sensibilidade dos isolados de *P. infestans* ao fluazinam foi observada por meio de avaliação da área infectada pelo fungo em folhas destacadas de batata, de acordo com a metodologia descrita por Colon, Nielsen e Darsow (2004), contendo adaptações do trabalho de Scherb e Mehl (2006), descrito pelo FRAC (Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas), para determinação da CE₅₀ (concentração efetiva do fungicida para inibir 50% do desenvolvimento do fungo) do fungicida.

No primeiro momento, foi efetuado o plantio de tubérculos de batata da cultivar Ágata em vasos contendo solo, sob condições de casa de vegetação. Decorridos aproximadamente 40 dias do plantio, foram retiradas folhas de batata do terço médio da planta, as quais foram lavadas e padronizadas pelo tamanho. Para testar as concentrações efetivas, estes folíolos foram imersos em solução com diferentes concentrações do fungicida Frowncide® (500g/L de fluazinam) por três segundos,

sendo estas 0; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 10 e 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (SCHEPERS et al., 2018). Após estarem secos, os folíolos foram dispostos, com o lado abaxial para cima, em placas de Petri contendo meio ágar-água de forma a manter a turgidez das folhas (FIGURA 2).

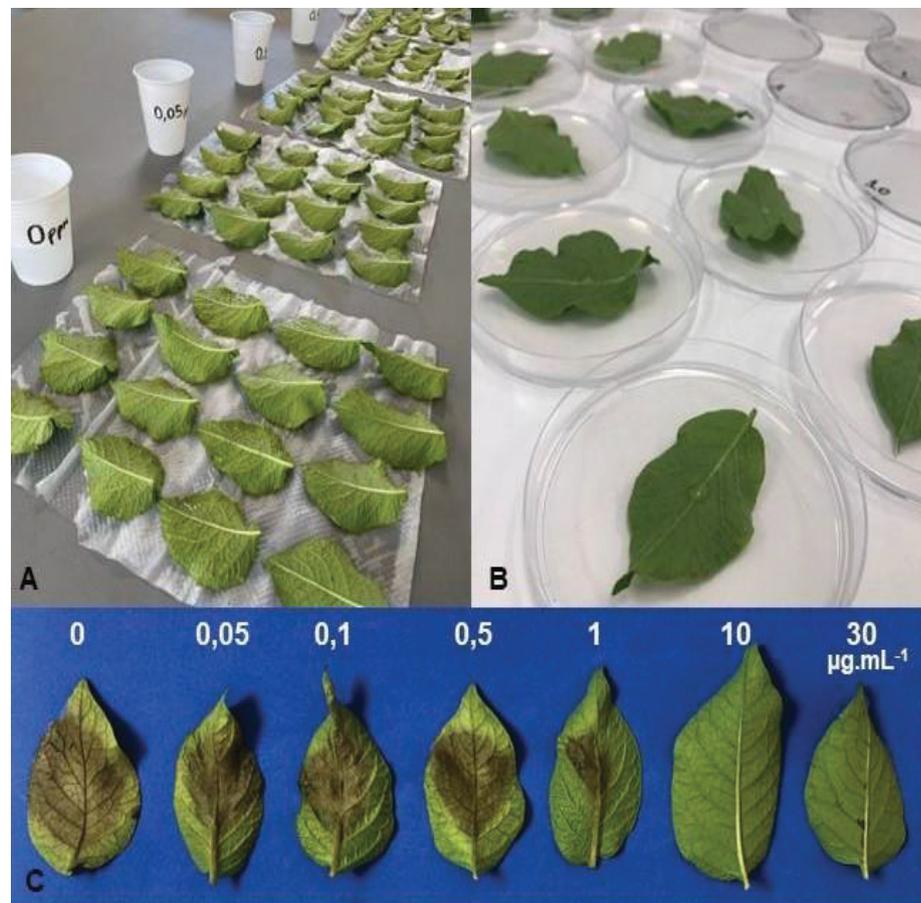
Na sequência, cada folíolo foi inoculado ao centro com 20 μl de uma suspensão contendo 10^5 esporângios de *P. infestans*/mL, diluídos em água destilada. As placas foram vedadas com filme plástico transparente e incubadas em BOD a 17°C com fotoperíodo de 16 horas por 6 dias (CASA COILA, 2014). Para obtenção dos esporos utilizados na inoculação, cada isolado foi cultivado em placas de Petri contendo meio V8, e mantidos até a esporulação em BOD a 17°C por 7 a 14 dias.

A avaliação foi conduzida 6 dias após a inoculação, de forma a observar a porcentagem de área infectada sobre o folíolo tratado, de acordo com o protocolo da Potato Late Blight Network for Europe (COLON; NIELSEN; DARSOW, 2004), atribuindo valores intermediários de infecção entre 1 a 100% através do software para processamento e mensuração de imagens digitais QUANT. Além da porcentagem de área infectada, foi utilizado outro parâmetro, desenvolvido por Gouot (1994), a fim de comparar a sensibilidade dos isolados. Gouot desenvolveu esta classificação, denominado fator de resistência, para verificação da sensibilidade de isolados, a qual também foi utilizada como referência por outros autores que objetivaram estudar a evolução da mesma (REKANOVIĆ et al., 2011). O fator de resistência (RF) foi expresso como a razão da CE_{50} e a mais baixa CE_{50} dos isolados testados, resultando na seguinte escala:

- RF < 3 - isolados sensíveis (S);
- RF = 3 - 20 > - isolados moderadamente resistentes (MR);
- RF = 100 > - isolados altamente resistentes (R).

Por fim, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um folíolo de batata. A sensibilidade foi mensurada por meio do cálculo da concentração efetiva (CE_{50}) com análise de regressão linear.

FIGURA 2 – CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO E AVALIAÇÃO. A) Folíolos após imersão em solução contendo o fungicida fluazinam em sua respectiva concentração; B) Placas de Petri contendo os folíolos tratados e inoculados com gota contendo suspensão de esporos de *Phytophthora infestans* ao centro; C) Folíolos apresentando sintomas de requeima nas concentrações de fluazinam testadas.



FONTE: A autora (2023).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores da concentração efetiva 50% (CE₅₀) variaram de 0,01 µg mL⁻¹, em um isolado proveniente de cidade de Castro (CAPR6), a 13,82 µg mL⁻¹, de um isolado proveniente de cidade de Guarapuava (GUPR1) (TABELA 1). Cerca de 72,7% dos isolados testados apresentaram um valor de CE₅₀ inferior a 0,50 µg mL⁻¹, sendo que 45,5% apresentaram CE₅₀ menor a 0,2 µg mL⁻¹ para o fungicida fluazinam (FIGURA 3). Apenas 2 isolados apresentaram CE₅₀ superior a 1 µg mL⁻¹, sendo estes o isolado PAPR1 (3,44 µg mL⁻¹) e o isolado GUPR1 (13,82 µg mL⁻¹).

TABELA 1 – CONCENTRAÇÃO EFETIVA (CE₅₀) DE ISOLADOS DE *Phytophthora infestans* AO FUNGICIDA FLUAZINAM, SEU RESPECTIVO LOCAL DE COLETA, ANO EM QUE FOI ISOLADO E FATOR DE RESISTÊNCIA (RF).

Isolado	Local	Isolamento	CE ₅₀ (µg mL ⁻¹)	Fator de resistência
AOPR1	Antônio Olinto	2021	0,14	S ⁽¹⁾
AOPR5	Antônio Olinto	2021	0,07	S
COPR1	Contenda	2021	0,37	S
COPR2	Contenda	2021	0,23	S
GUPR1	Guarapuava	2021	13,82	MR ⁽²⁾
GUPR7	Guarapuava	2021	0,43	S
CAPR6	Castro	2022	0,01	S
CAPR8	Castro	2022	0,02	S
LAPR1	Lapa	2022	0,56	S
LAPR2	Lapa	2022	0,03	S
PAPR1	Palmeira	2022	3,44	MR

⁽¹⁾Sensível; ⁽²⁾Moderadamente Resistente

FONTE: A autora (2023).

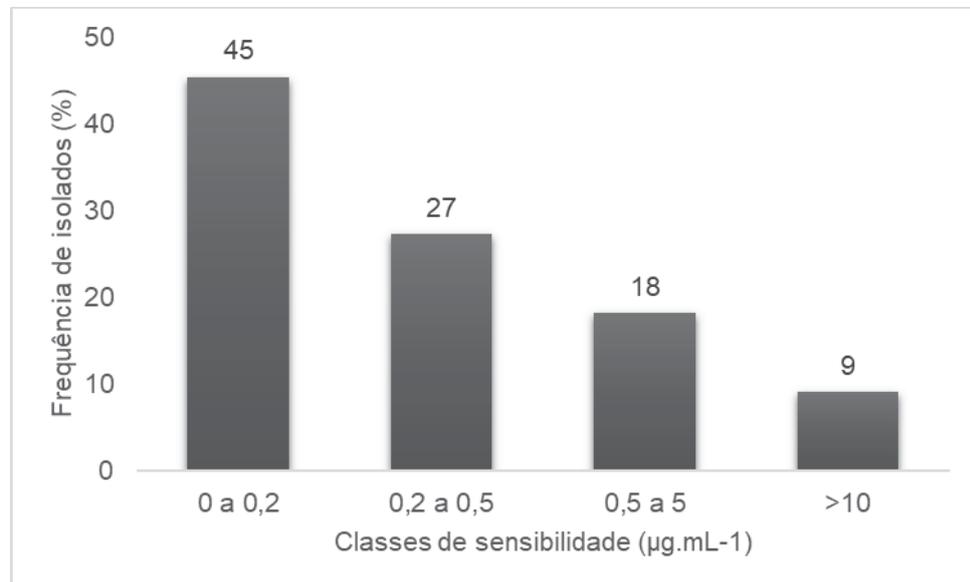
Observando os resultados obtidos neste trabalho, é perceptível que a maioria dos isolados de *P. infestans* apresentaram-se sensíveis ao fungicida testado. Os valores de CE₅₀ encontrados para a maioria dos isolados (0,01 a 0,56 µg mL⁻¹) sugerem que não houve perda de sensibilidade na população do patógeno, entretanto, o isolado PAPR1 (3,44 µg mL⁻¹) e o isolado GUPR1 (13,82 µg mL⁻¹) merecem atenção especial por estarem dentro da faixa de fator de resistência considerados como isolados moderadamente resistentes e isolados altamente resistentes, respectivamente, se analisado pela escala de Gouot (1994).

No trabalho reproduzido por Rekanović (2011), para isolados de *P. infestans* coletados no período de 2005 a 2007 em cidades da Holanda, foram encontrados valores de CE₅₀ entre 0,14 e 0,27 mg L⁻¹, onde todos os isolados testados foram considerados altamente sensíveis ao fungicida fluazinam, valores semelhantes aos encontrados para alguns isolados estudados neste trabalho.

Os resultados deste trabalho sugerem uma provável ocorrência de isolados com menor sensibilidade ao fluazinam, e reforça a necessidade de monitoramento em

campos comerciais. Tal fato corrobora com o trabalho desenvolvido por Schepers (2011), o qual avaliou a sensibilidade de isolados de *P. infestans* coletados em campos experimentais no período de 2011 a 2015 na Holanda, foi encontrado uma linhagem clonal denominada EU_33_A2, dentro da qual verificou-se um isolado apresentando eficácia reduzida de controle pelo fluazinam. Neste caso, foram analisados fatores como severidade, área abaixo da curva de progresso da doença e motilidade de zoósporos.

FIGURA 3. RELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO EFETIVA 50% (CE₅₀) DOS ISOLADOS DE *Phytophthora infestans* AO FUNGICIDA FLUAZINAM ($\mu\text{g mL}^{-1}$).



FONTE: A autora (2023).

Fluazinam é o único produto comercial disponível da classe das fenilpiridinilaminas para controle de requeima no Brasil e no mundo. Seu modo de ação ocorre por meio da inibição da oxidação fosforilativa, promovendo inibição da produção de energia do oomiceto. Por ser imóvel na planta este fungicida atua como protetor, em função disto pode-se relacionar um maior potencial de controle antes da doença se instalar no tecido da planta, já que não possui efeito curativo e sistêmico tão significativo (LIANG et al., 2015).

Compreender o modo de ação dos fungicidas e seu comportamento sobre doenças no campo permite a busca por estratégias de manejo mais adequadas ao

problema. Neste sentido, a preservação de moléculas eficazes no controle de doenças é de extrema importância, como é o caso do fungicida fluazinam.

Mais estudos precisam ser realizados acerca dos resultados obtidos neste trabalho, a fim de evidenciar a real ocorrência de redução de sensibilidade de isolados de *Phytophthora infestans* ao fluazinam. Além disso, é necessário verificar a concentração efetiva 50% (CE₅₀) de um maior número de isolados referentes às cidades estudadas e em mais regiões produtoras de batata do estado do Paraná e na região sul do Brasil.

5 CONCLUSÕES

- Os valores de CE50 para fluazinam variaram de 0,01 a 13,82 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para os isolados de *Phytophthora infestans* avaliados.
- Houve evidências de que cerca de 18,2% dos isolados testados apresentaram-se moderadamente resistentes. Os demais, mostraram-se sensíveis ao fungicida fluazinam.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CASA COILA, V. H. **Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary provenientes de batata do Sul do Brasil associada ao estudo da resistência em *Solanum* spp.** Março, 2014, Pelotas. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1011924/1/TESEVictorHugoCasaCoila.pdf>. Acesso em: 24 de outubro de 2022.
- CHMIELARZ, M.; SOBKOWIAK, S.; DEZBSKI, K.; COOKE, D. E. L.; BRURBERG M. B.; SLIWKA, J. Diversity of *Phytophthora infestans* from Poland. **Plant Pathology**, v.63, n.1, p.203-211, 2014.
- COLON, L.; NIELSEN, B. J.; DARSOW, U. **Eucablight protocol – Detached leaf test for foliage blight resistance.** Version 1.2. 2004.
- DRENTH, A.; TURKENSTEEN, L.J.; GOVERS, F. The occurrence of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* in the Netherlands; significance and consequences. **Netherlands Journal of Plant Pathology**. 99 (Supplement 3): p. 57-67, 1993.
- DUARTE, H. S. S.; ZAMBOLIM, L.; MIZUBUTI, E. S. G.; PÁDUA, J. G.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; CARMO, E. L.; NOGUEIRA JÚNIOR, A. F. The field resistance of potato cultivars to foliar late blight and its relationship with foliage maturity type and skin type in Brazil. **Australasian Plant Pathology**, v.41, p.139-155, 2012.
- EMBRAPA Hortaliças. **Como Plantar Batata.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicas/batata/como-plantar>. Acesso em: 02 jan. 2023.
- FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L.; CHU, E. P.; ALMEIDA, V. P. Tuberização. In: KERBAUY, G. B. (Ed.) **Fisiologia Vegetal**. Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, 2004, p. 409-420.
- FLIER, W.G., VAN DEN BOSCH, G.B.M. & TURKENSTEEN, L.J. Stability of partial resistance in potato cultivars exposed to aggressive strains of *Phytophthora infestans*. **Plant Pathology**, v. 52, p. 326–337, 2003.
- FOHNER, G.R., FRY, W.E. & WHITE, G.B. Computer simulation raises question about timing protecting fungicide application frequency according to potato late blight forecast. **Phytopathology**, v. 74, p.1145-1147, 1984.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAOSTAT). **Crops**. 2020. Disponível em: . Acesso em: 27 de novembro de 2022.

GOODWIN, S.B. The population genetics of *Phytophthora*. **Phytopathology**, v. 87, 462-473, 1997.

GOUOT, J.M. Characteristics and population dynamics of *Botrytis cinerea* and other pathogens resistant to dicarboximides. In: Fungicide Resistance in North America. (Delp C.J., ed.), **The American Phytopathological Society**, St. Paul, Minnesota, USA, p. 53-55, 1994.

HOOKER, W.J. Compendium of Potato Diseases. St. Paul: **APS Press**, 1981.

IBGE. **Produção agrícola – lavoura temporária**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/14/10233?indicador=10242&localidade1=0>. Acesso em: 02 de janeiro de 2023.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; RESENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia**. Vol.II, Doenças das plantas cultivadas. São Paulo, CERES, cap.64, p.690-719, 1997.

LIANG, H. J.; DI, Y. L.; LI, J. L.; ZHU, F. X. Baseline sensitivity and control efficacy of fluazinam against *Sclerotinia sclerotiorum*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 142, p. 691-699, 2015.

MARCOMINI, G. R. **Eficiência na produção de batata**. Disponível em: file:///C:/Users/usuario/Downloads/Marcomini_GilsonRogerio_D.pdf. Acesso em: 02 de janeiro de 2023.

MATHERON, M.E.; PORCHAS, M. Impact of azoxystrobin, dimethomorph, fluazinam, fosetyl-AI, and metalaxyl on growth, sporulation, and zoospore cyst germination of three *Phytophthora* spp. **Plant Disease**, 84: 454- 458, 2000.

MIZUBUTI, E.S.G.; FRY, W.E. Potato Late Blight. **The Epidemiology of Plant Diseases**. Springer, Dordrecht. p. 445-471, 2006.

NAZARENO, N. R. X.; BRISOLLA, A. D.; ZANDONA, J. C. Uso de agroquímicos na cultura da batata em Curitiba e Guarapuava. Londrina: **IAPAR** (Informe de pesquisa, 114), 1995.

NAZARENO, N. R. X.; JACCOUD FILHO, D. S. Doenças fúngicas. In: PEREIRA, A. S.; DANIELS, E. J. (ed). O cultivo da batata na Região Sul do Brasil. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 239-276, 2003.

NAZARENO, N.R.X., SCOTTI, C.A., MAFIOLETT, R.L. & BOSCHETTO, N. Controle da requeima da batata através do monitoramento de variáveis climáticas. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, p.170-174, 1999.

NIEDERHAUSER, J.S. *Phytophthora infestans*: The Mexican connection. In: LUCAS, J.A.; SHATOCK, R.C.; SHAW, D.S.; COOKE, L.R. (Eds.). **Phytophthora**: Cambridge, Mycological Society by Cambridge University, p.25-45, 1991.

REIS, A., SMART, C.D., FRY, W.E., MAFFIA, L.A. & MIZUBUTI, E.S.G. Characterization of isolates of *Phytophthora infestans* from southern and southeastern Brazil from 1998 to 2000. **Plant Disease**, v.87, p.896-900, 2003.

REKANOVIĆ, E.; POTOČNIK, I.; MILIJAŠEVIĆ-MARČIĆ, S.; STEPANOVIĆ, M.; TODOROVIĆ, B.; MIHAJLOVIĆ, M. Sensitivity of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary to Fluazinam, Fosetyl-AI and Propamocarb-hydrochloride. **Pesticides and Phytomedicine**, v. 26, n. 2, p. 111– 116, 2011.

SCHEPERS, H. T. A. M.; KESSEL, G. J. T.; LUCCA, F.; FORCH, M. G.; VAN DEN BOSCH, G. B. M.; TOPPER, C. G.; EVENHUIS, A. Reduced efficacy of fluazinam against *Phytophthora infestans* in the Netherlands. **European journal of plant pathology**, v. 151, p. 947-960, 2018.

SCHERB C. T.; MEHL, A. Detached leaf monitoring method. 2006. **FRAC**. Disponível em: <http://www.frac.info/monitoring-methods>. Acesso em: 24 de outubro de 2022.

SCOTTI, C. A.; NAZARENO, N. R. X. Batata. In: IAPAR. **Agronegócio do Paraná: perfil e características das demandas das cadeias produtivas**. Londrina: IAPAR, (Documentos, 24), p. 109-114, 2000.

STEVENSON, W. R. et al. (Eds). **Compendium of potato diseases**. 2 ed. Saint Paul: The American Phytopathological Society Press, 2001.

TAMURA, O. Fluazinam resistance in leguminous *Botrytis cinerea* and resistance management. **Abstracts of the 10th. Symposium of Research Committee on Fungicide Resistance**, p. 7-16, 2000.

TÖFOLI, J. G., DOMINGUES R.J. Batata, desafios fitossanitários e manejo sustentável. Doenças fúngicas da batata. **CRIAR UPL**, p. 123-129, 2020.

TÖFOLI, J. G., DOMINGUES R.J., ZANOTTA, S. Doenças Fúngicas da Batata. In: Salas F.J.S. & Tofoli, J.G. Cultura da batata: pragas e doenças. **Instituto Biológico**, p. 162-208, 2017.

TÖFOLI, J.G.; MELO, P.C.T.; DOMINGUES, R.J.; FERRARI, J.T. Requeima e pinta preta na cultura da batata: importância, características e manejo sustentável.

Biológico, São Paulo, v.75, n.1, p.33-40, 2013.

TRIGIANO, R. N.; AMENT, M. H.; LAMOUR, K. H. Oomycota Organismos Similares a Fungos. In: TRIGIANO, R. N.; WINDHAM, M. T.; WINDHAM, A. S. (Ed.). Fitopatologia conceitos e exercícios de laboratório. 2ed. Porto Alegre: **Editora Artmed**, p.215-225, 2010.

ZADOKS, J. C. The potato murrain on the European Continent and the revolutions of 1848. **Potato Research**, v.51, p.5-45, 2008.

ZAMBOLIM, L., DO VALE, F.X.R. & COSTA, H. Doenças causadas por fungos em batata. In: ZAMBOLIM, L., DO VALE, F.X.R. & COSTA, H. (Eds.) **Controle de Doenças de Plantas-Hortaliças**. Visconde do Rio Branco, p. 173-208, 2000.

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