

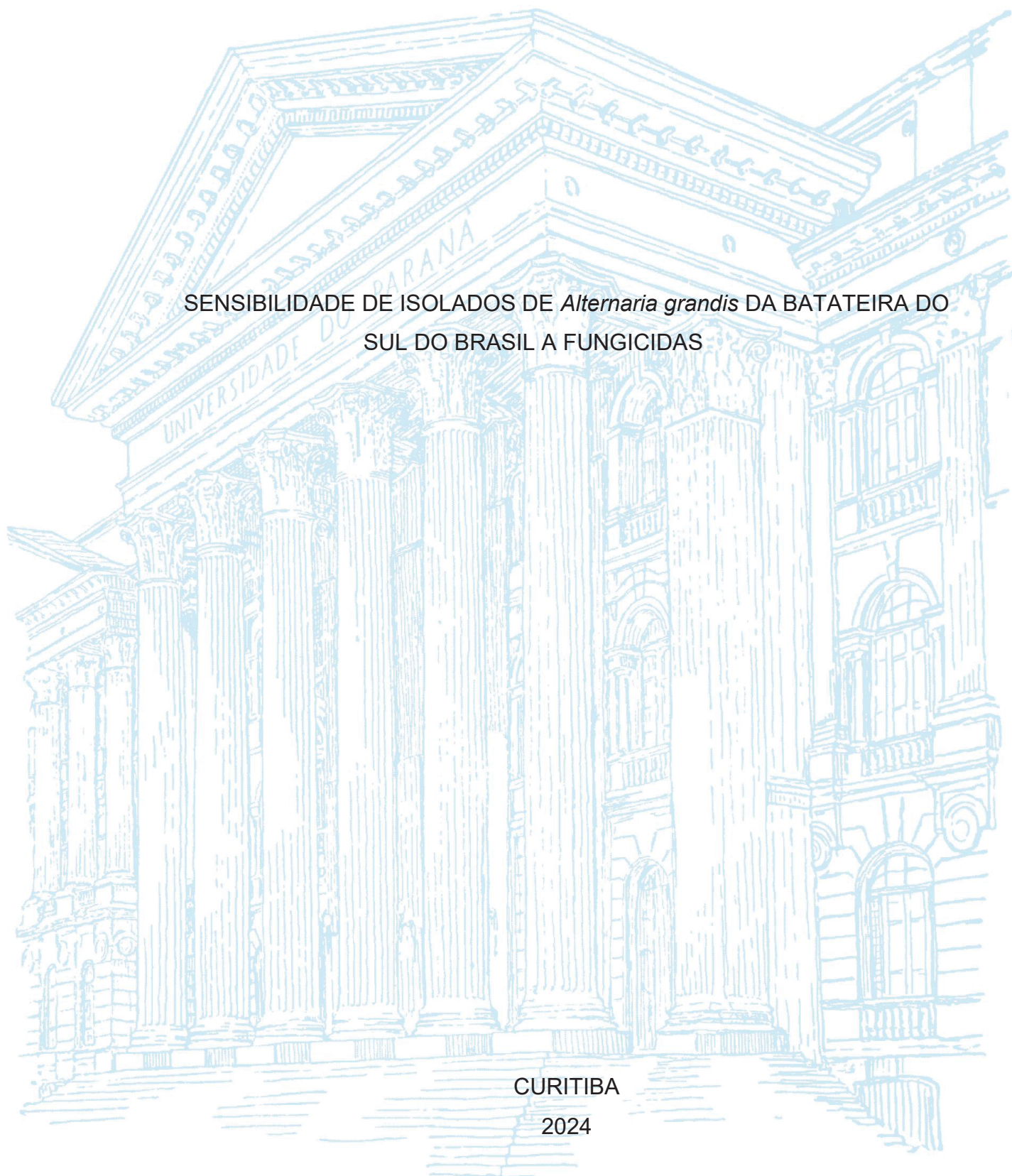
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MAYARA CATHERINE CANDIDO SILVA

SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Alternaria grandis* DA BATATEIRA DO
SUL DO BRASIL A FUNGICIDAS

CURITIBA

2024



MAYARA CATHERINE CANDIDO SILVA

SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Alternaria grandis* DA BATATEIRA DO
SUL DO BRASIL A FUNGICIDAS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Henrique da Silva Silveira Duarte

Coorientadores: Prof^a. Dr^a. Renata Faier Calegario e Prof. Dr. Álvaro Figueredo dos Santos

CURITIBA

2024

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Silva, Mayara Catherine Candido

Sensibilidade de isolados de *Alternaria grandis* da batateira do sul do Brasil a fungicidas/ Mayara Catherine Candido Silva. – Curitiba, 2024.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal).

Orientador: Prof. Dr. Henrique da Silva Silveira Duarte

Coorientadores: Profª Drª Renata Faier Calegario e Prof. Dr. Álvaro Figueredo dos Santos

1. Batata. 2. Fungicidas. 3. Fungos. I. Duarte, Henrique da Silva Silveira. II. Calegario, Renata Faier. III. Santos, Álvaro Figueiredo dos. IV. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal). V. Título.

Bibliotecária: Telma Terezinha Stresser de Assis CRB-9/944



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **MAYARA CATHERINE CANDIDO SILVA** intitulada: **SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Alternaria grandis* DA BATATEIRA DO SUL DO BRASIL À FUNGICIDAS**, sob orientação do Prof. Dr. HENRIQUE DA SILVA SILVEIRA DUARTE, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 29 de Fevereiro de 2024.

Assinatura Eletrônica

01/03/2024 08:50:03.0

HENRIQUE DA SILVA SILVEIRA DUARTE

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

01/03/2024 13:39:04.0

RENATA FAIER CALEGARIO

Coorientador(a)

Assinatura Eletrônica

01/03/2024 11:25:51.0

LUCAS FAGUNDES DA SILVA

Avaliador Externo (EPAMIG)

Dedico esta monografia ao meu querido avô Nildo Candido (*in memoriam*), cuja presença foi essencial na minha vida e por sempre me incentivar desde o início dos meus estudos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela esperança, pela vida e por estar ao meu lado em todos os momentos.

Ao meu marido Daniel de Paula Witkowski por todo apoio, carinho, ajuda e paciência, e aos meus cachorros Ragnar e Lagertha.

Aos meus pais Regiani Cristina Candido e Renato Cesar Silva que sempre me auxiliaram em minhas escolhas e nunca deixaram de acreditar em meu potencial. Em especial a minha mãe pelas ligações diárias e mesmo nas horas mais difíceis nunca deixou de me apoiar. Sou infinitamente grata aos meus amáveis pais, sem o auxílio deles jamais chegaria até aqui.

Aos meus familiares, em especial meus irmãos Felipe Henrique Candido Silva e Jonas Victor Candido Silva pelo incentivo e apoio.

À Universidade Federal do Paraná que me proporcionou o sonho de cursar em uma universidade pública a graduação e agora o mestrado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Henrique da Silva Silveira Duarte pela oportunidade, paciência e confiança, além do direcionamento e incentivo.

A todos os professores que contribuíram na minha formação, pela dedicação ao ensino, em especial a professora Renata Faier Calegario, por todo o carinho, paciência e oportunidade.

Aos colegas do Laboratório de Epidemiologia Molecular (LAEM) e Laboratório de Epidemiologia e Manejo Integrado de Doenças – LEMID, em especial à turma da batata Elizeu Junior e Gabriel Koch pelo auxílio nesse trabalho, incentivo, reflexões e risadas.

As minhas amigas da UFPR, Pâmela Franciela Rosa, Mariana Custodio dos Santos, Giulia Karolline Kaminski e Drielly Mocroski pela parceria, risadas, descontrações e ótimas conversas.

As minhas amigas da vida, Gabriella de Oliveira Maia e Jessica Larissa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo e oportunidade de pesquisa.

Por fim, obrigado a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a minha formação.

Minha eterna gratidão.

“Você comerá do fruto do seu trabalho, e será feliz e próspero.”

Salmos 128:2

RESUMO

A cultura da batata no Brasil é frequentemente afetada pela pinta preta, uma doença foliar causada por diferentes espécies de fungos do gênero *Alternaria*. O controle químico é a medida mais utilizada para evitar os danos causados por esses patógenos. São utilizados fungicidas protetores, que apresentam baixo risco de perda de sensibilidade, e fungicidas sistêmicos, que possuem um modo de ação específico, aumentando as chances de seleção de isolados resistentes do patógeno ao longo do tempo. Informações sobre o comportamento de isolados de *Alternaria* spp. a fungicidas são escassas, principalmente no Sul do Brasil. O objetivo deste trabalho foi, portanto, estudar a sensibilidade desses isolados da cultura da batateira aos fungicidas ciprodinil (Unix®), pirimetanil (Mythos®), iprodiona (Rovral®) e procimidona (Sumilex®). Um total de 100 isolados foram coletados nas principais regiões produtoras de batata nos três estados do Sul: Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. No laboratório, o fungo foi isolado indiretamente de folhas de batateira sintomáticas e, após a obtenção de culturas monospóricas, os isolados foram separados conforme a morfologia, onde conídios caracterizados como de tamanho grande e bicos longos foram utilizados neste estudo, totalizando 44 isolados. A identificação de *Alternaria* spp. foi realizada pela amplificação do DNA por PCR utilizando primers para os genes *tef-1α* e *gapdh*, sequenciamento e análise filogenética. A sensibilidade dos isolados aos fungicidas foi determinada através de testes de CE₅₀ (concentração efetiva para inibir 50% do crescimento do fungo), utilizando-se as doses 0; 0,0001; 0,001; 0,01; 0,1; 1 e 10 ug.ml⁻¹ para ciprodinil e pirimetanil, e as 0; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; e 10 ug.ml⁻¹. para iprodiona e procimidona. Dos 44 isolados coletados, todos foram identificados como espécies de *Alternaria grandis*. Os valores de CE₅₀ variaram de 0,02 a >100 ug.ml⁻¹, 0,9 a >100 ug.ml⁻¹, 0,08 a 9,15 ug.ml⁻¹ e 1,27 a >100 ug.ml⁻¹ para os fungicidas ciprodinil, pirimetanil, iprodiona e procimidona, respectivamente. Verificou-se uma diferença de sensibilidade entre os isolados aos fungicidas estudados. Desta forma, este estudo permite compreender o panorama atual da sensibilidade da *Alternaria grandis* aos quatro fungicidas estudados possibilitando, posteriormente, delinear novas estratégias de manejo da resistência, principalmente nas regiões onde os isolados apresentaram sensibilidade reduzida, visando a manutenção do potencial produtivo da cultura e a longevidade da utilização destes fungicidas.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L., anilinopirimidina, dicarboxamida.

ABSTRACT

The potato crop in Brazil is frequently affected by early blight, a leaf disease caused by different species of fungi from the *Alternaria* genus. Chemical control is the most widely used measure to prevent the damage caused by these pathogens. Protective fungicides are used, which present a low risk of loss of sensitivity, and systemic fungicides, which have a specific mode of action acting directly on the pathogen, increasing the chances of the fungus becoming resistant to fungicides and resulting in the selection of resistant isolates of the pathogen over time. Information on the behavior of *Alternaria* spp. isolates to fungicides are scarce, especially in southern Brazil. The aim of this work was therefore to study the sensitivity of these isolates in potato crops to the fungicides cyprodinil (Unix®), pyrimethanil (Mythos®), iprodione (Rovral®) and procymidone (Sumilex®). A total of 100 isolates were collected from the main potato producing regions in the three southern states of Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul. In the laboratory, the fungus was isolated indirectly from symptomatic potato leaves and, after obtaining monospore cultures, the isolates were separated according to morphology, where conidia characterized as large and long beaked were used in this study, totalling 44 isolates. The identification of *Alternaria* spp. was performed by DNA amplification by PCR using specific primers for the *tef-1 α* and *gapdh* genes, sequencing and phylogenetic analysis. The sensitivity of the isolates to fungicides was determined through EC₅₀ tests (effective concentration to inhibit 50% of fungal growth), using doses 0; 0.0001; 0.001; 0.01; 0.1; 1 and 10 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ for cyprodinil and pyrimethanil, and 0; 0.5; 1.0; 2.5; 5.0; 7.5; and 10 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ for iprodione and procymidone. Of the 44 isolates collected, all were identified as *Alternaria grandis* species. The CE₅₀ values ranged from 0.02 to >100 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, 0.9 to >100 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, 0.08 to 9.15 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ and 1.27 to >100 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ for the fungicides cyprodinil, pyrimethanil, iprodione and procymidone, respectively. There was a difference in sensitivity between the isolates to the fungicides studied. In this way, this study provides an overview of the current sensitivity of *Alternaria grandis* to the four fungicides studied, making it possible to outline new resistance management strategies, especially in regions where the isolates showed reduced sensitivity, with a view to maintaining the crop's productive potential and the longevity of the use of these fungicides.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., anilinopyrimidine, dicarboxamide.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 CULTURA DA BATATA.....	19
2.2 PINTA PRETA.....	21
2.2.1 Os agentes causais da Pinta Preta da batateira	22
2.3 CONTROLE	26
2.4 RESISTÊNCIA DE FUNGOS A FUNGICIDAS	27
3 . MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 ISOLAMENTO E ARMAZANAMENTO	30
3.2 IDENTIFICAÇÃO DE <i>ALTERNARIA</i> SPP.	31
3.3 SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS	34
4. RESULTADOS.....	35
4.1 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR	35
4.2 SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE <i>ALTERNARIA GRANDIS</i> A FUNGICIDAS	
37	
5. DISCUSSÃO	38
6. CONCLUSÃO	43
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS.....	44
ANEXO 1.....	56
ANEXO 2.....	58
ANEXO 3.....	59
ANEXO 4.....	62

1 INTRODUÇÃO

A cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) é produzida há mais de 7 mil anos, sendo originária das montanhas do Peru e do Chile, na América do Sul (Fiers et al., 2010). Possui grande importância econômica e social em diversos países no mundo, devido ao seu alto valor nutricional e rendimento, podendo ser cultivada em diferentes condições climáticas, sistemas de produção e níveis tecnológicos (Töfoli, 2011). A China e Índia são os maiores produtores mundiais do tubérculo. O Brasil ocupa a 19ª posição no ranking mundial (FAOSTAT, 2023) e nas três safras de 2022 produziu 3,8 milhões de toneladas (IBGE, 2023).

A região Sudeste se sobressai como um importante polo produtor do país, com os estados de Minas Gerais e São Paulo destacando-se como líderes nacionais nesse setor. Além disso, os estados da região Sul também se destacam como grandes produtores, especialmente durante a safra das águas. Em fevereiro de 2023, essa região contribuiu com cerca de 50% do abastecimento nacional, conforme dados da Conab (2023). Mesmo com a versatilidade nos períodos e locais para produção, o cultivo de batata está sujeito a ação de diversos agentes bióticos e abióticos que podem comprometer a capacidade produtiva das plantas. Estudos demonstraram que a bataticultura pode ser afetada por mais de 100 doenças infecciosas causadas por agentes bióticos (Gabahardt e Valkonen, 2001; EMBRAPA, 2015). Dentre as doenças foliares podemos destacar a requeima (*Phytophthora infestans*) e a pinta preta (*Alternaria* spp.), sendo essa última considerada a doença frequente nos cultivos, afetando a parte aérea das plantas a partir do período de florescimento podendo, em alguns casos, resultar na desfolha total da planta (Töfoli et al., 2013; EMBRAPA, 2015).

A pinta preta é uma doença foliar com ocorrência em todas as regiões produtoras de batata, sendo de grande importância econômica no Brasil e no mundo (Töfoli e Domingues, 2022). No Brasil, é considerada uma doença com alto potencial destrutivo no cultivo de batata (Romero, et al., 2020). É causada por diferentes espécies do gênero *Alternaria*, patógeno extremamente agressivo, podendo causar danos de até 45% da produção de batata quando realizado o cultivo com cultivares suscetíveis à doença (Duarte et al., 2019).

Inicialmente, acreditava-se que o agente causal da pinta preta no Brasil fosse *A. solani*, mas estudos constataram que a doença pode ser causada por *A.*

grandis, *A. alternata*, *A. arborencens*, e *A. bassicola*, sendo *A. grandis* considerada a espécie predominante que ataca a cultura da batata (Rodrigues, 2009; Peixoto, 2015; Silva, 2020).

A ocorrência das espécies pode variar em função do local, e as diferenças na sintomatologia não são evidentes entre as espécies, porém, essas se distinguem em relação ao tamanho e morfologia dos conídios e cultura do fungo (Töfoli, 2011; Simmons, 2007). Devido a pequenas características, estes métodos não têm sido suficientes para a identificação de espécies deste gênero (Peres et al., 2003; Simmons, 2000; Fungaro, 2000; Simmons e Roberts, 1993). Com essa problemática, estudos taxonômicos dividiram o gênero *Alternaria* em 29 seções, embasados em dados morfológicos e, principalmente, moleculares (Grum-Grzhimaylo et al., 2015; Woudengerg et al., 2013; 2014; Marin-Felix et al., 2019; Li et al., 2022). O controle da pinta preta é embasado nas medidas utilizadas dentro do manejo integrado de doenças, envolvendo o controle cultural, adotando medidas relacionadas a eliminação de restos culturais, adubação e molhamento foliar; o controle genético, com a adoção de cultivares resistentes; e o controle químico, que se torna a medida mais utilizada para evitar reduções na produção (Romero et al., 2020).

O controle da doença em todo o mundo é realizado principalmente com aplicações de fungicidas por ser a medida de controle mais eficiente (Guenthner et al., 1999; Aylor et al., 2001; Mizubuti, 2001; Shuman e Christ, 2005; Vitale et al., 2016). Entretanto, o manejo inadequado, incluindo sucessivas aplicações de fungicidas de mesmo ingrediente ativo, propicia a seleção de indivíduos resistentes na população do patógeno (Ghini e Kimati, 2002). Desta forma, o estudo da resistência de fungos a fungicidas é primordial para o correto manejo das doenças em campo, garantindo o uso dos fungicidas com eficiência ao longo dos anos. Quando a resistência é detectada numa população, estratégias de manejo devem ser consideradas para impedir um uso indiscriminado e inadequado de fungicidas. Portanto, o monitoramento da dinâmica das populações de patógenos e alterações na sensibilidade a diferentes grupos de fungicidas são fundamentais para garantir escolha de ingredientes ativos eficientes, evitando-se assim, contaminações ambientais desnecessárias.

A resistência de *Alternaria* spp. a fungicidas é pouco conhecida na região sul do Brasil, envolvendo os estados Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul um polo de produção da cultura da batata. Em um levantamento com representantes técnicos de empresas e produtores, foi identificado que ciprodinil, pirimetanil, iprodiona e procimidona são os ingredientes ativos amplamente utilizados no Sul do Brasil¹. Portanto, o objetivo do presente estudo foi estudar a sensibilidade de isolados identificados como *A. grandis* aos fungicidas ciprodinil, pirimetanil, iprodiona e procimidona, visando definir as melhores estratégias para o uso racional desta prática.

¹ NOTA: Comunicação informal feita com profissionais da área de cultivo de batata.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CULTURA DA BATATA

A batata (*Solanum tuberosum* L.), tem origem nas montanhas do Peru e Chile na América do Sul, e é cultivada há mais de 7 mil anos (Fiers et al., 2010). Por volta de 1570, a batata foi introduzida na Europa pelos espanhóis, tornando-se importante fonte de alimentação e, posteriormente, expandiu-se por toda a Europa, África, Ásia e América do Norte (Lopes e Buso, 1977).

Entre as espécies cultivadas de batata, *Solanum tuberosum* L. é a mais representativa (Fortes e Pereira, 2003). A batata pertence à família Solanaceae, é uma planta dicotiledônea, anual, herbácea e tuberosa, que tem o tubérculo como órgão de interesse econômico sendo uma importante fonte de carboidratos e proteínas para a alimentação (Beukema e Vander Zaag, 1979; Koch et al., 2019; Naumann et al., 2019). Além disso, o tubérculo é a principal forma de propagação da planta. A batateira apresenta caules aéreos com folíolos arredondados e sua inflorescência é composta por flores hermafroditas no topo da planta. O sistema radicular, por sua vez, é considerado superficial, podendo ser encontrado em até 30 cm de profundidade, a partir dos quais se originam os caules e hastes (Filgueira, 2008).

A batata é um dos alimentos consumidos em maior quantidade no mundo, tanto por sua composição nutricional, bem como sua diversidade gastronômica, quanto pela sua importância econômica, podendo ser cultivada nas mais diversas condições climáticas, sistemas de produção e níveis tecnológicos, em todos os cinco continentes (Töfoli, 2011).

No que tange a produtividade, China (94,3 milhões de toneladas) e Índia (54,2 milhões de toneladas) foram os maiores produtores mundiais em 2021. Fato esse que talvez possa ser justificado pelo alto nível de densidade demográfica e necessidade de alimentação da população asiática. Na Europa, Ucrânia (21,3 milhões de toneladas) e Rússia (18,3 milhões de toneladas) foram maiores produtores, enquanto no continente americano despontaram, Estados Unidos, Canadá, Peru, Brasil, Argentina e Colômbia, respectivamente (FAOSTAT, 2023).

Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2023), indicaram que a produção nacional no ano de 2022 foi de 3,8 milhões de toneladas,

divididas em três safras anuais. Nesse contexto, a Região Sudeste concentra o maior polo produtor de batata do país, no qual Minas Gerais (1,2 milhões toneladas) e São Paulo (688,5 mil toneladas) são os maiores produtores nacionais. Não menos importante, os estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul ganham destaque, representando cerca de 34% (1,2 milhões de toneladas) da produção nacional anual, distribuídos em cerca de 47 mil hectares de área plantada. A produção paranaense corresponde a cerca de 778,3 mil toneladas. O Rio Grande do Sul, por sua vez, tem sua produção estimada em 406,1 mil toneladas e Santa Catarina, 97,8 mil toneladas (IBGE, 2023).

A safra das águas paranaense, período em que há alta produção de batata, no mês de fevereiro de 2023 representou cerca de 50% do abastecimento nacional (Conab, 2023a). No período de seca, a oferta da batata no mercado não é muito elevada nos três estados, nesse período a oferta cai para cerca de 7% apenas (Conab, 2023b). A contribuição ao mercado, dos estados da região sul, aumenta novamente em dezembro, em 2023 atingiu a oferta de 35% do abastecimento nacional (Conab, 2024).

No Brasil, o cultivo de batata ocorre em três épocas distintas, descritas como safra das águas (colheitas de dezembro a março), da seca (colheitas de abril a julho) e de inverno (colheitas de agosto a novembro), sendo que o período de plantio pode variar de acordo com as características de cada região (Töfoli et al., 2013; Zanotta, 2019). O ciclo da cultura geralmente compreende um período entre 90 e 120 dias, em condições de clima tropical e subtropical (Fernandes et al., 2015) e, conforme descrito por Silva e Lopes (2015), pode ser dividido em cinco fases: brotação, crescimento, tuberização, crescimento dos tubérculos e maturação.

Independentemente da época e período, a cultura está exposta a agentes bióticos e abióticos que podem comprometer a capacidade produtiva das plantas. Tratando-se de agentes bióticos, relatos na literatura demonstram que a bataticultura pode ser afetada por mais de 100 doenças infecciosas (Gabahardt e Valkonen, 2001; EMBRAPA, 2015).

São destaques neste patossistema, a virose ocasionada por potato leafroll virus (PLRV), a murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*, a ocorrência de nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) e das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.), requeima (*Phytophthora infestans*) e pinta preta (*Alternaria* spp.),

essas duas últimas figuram entre as principais responsáveis por reduções de produção (EMBRAPA, 2015). A requeima da batata é classificada como a principal doença da cultura no mundo, com predomínio de ocorrência nas safras de inverno. No Brasil, a principal safra de produção é a safra de verão ou das águas, e nela a pinta preta se destaca como a doença de maior ocorrência, afetando a parte aérea das plantas a partir do período de florescimento podendo, em alguns casos, resultar na desfolha total da planta (Töfoli et al., 2013; EMBRAPA, 2015).

2.2 PINTA PRETA

A pinta preta é uma doença foliar que ocorre frequentemente em todas as regiões produtoras de batata em especial em áreas tropicais e subtropicais, sendo considerada de importância crescente a nível mundial (Töfoli e Domingues, 2022). É causada por diferentes espécies do gênero *Alternaria*, patógeno extremamente agressivo, sendo a espécie *Alternaria solani* Sorauer, a mais conhecida a nível mundial como o agente causal da doença (Rotem, 1994; Gannibal et al., 2014; Wolters et al., 2019).

Por se tratar de um patógeno necrotrófico, os restos culturais são considerados fonte de inóculo primário e assumem relevância epidemiológica considerável, uma vez que o fungo consegue sobreviver meses na presença deste material vegetal (Ganie et al., 2016). Concomitantemente, condições de alta temperatura (20 a 32°C) associados à alta umidade, com formação de filme d'água, favorecem o desenvolvimento da doença (Kemmitt, 2002; Töfoli e Domingues, 2022). A doença é policíclica e pode completar diversos ciclos de infecção ao longo da estação de cultivo, desta forma, o inóculo secundário pode ser produzido e disseminado rapidamente (Van Der Waals et al., 2003).

Os sintomas iniciam-se na região do baixeiro, onde encontram-se as folhas mais velhas, com o aparecimento de pequenas manchas escuras que, posteriormente, vão progredindo para as folhas do terço médio e superior da planta. Conforme a doença vai se desenvolvendo, as manchas foliares adquirem formato circular, elípticas ou delimitada pelas nervuras da planta (angulares), de coloração pardo-escuras, isoladas ou em grupos com a presença de anéis concêntricos e bordos bem definidos. Ao redor das lesões, é possível observar um halo clorótico como consequência da ação de toxinas e metabolitos liberados pelo fungo no tecido

foliar para favorecer a infecção e colonização dos tecidos. Em condições favoráveis de temperatura e umidade, a doença pode ocasionar desfolha total da planta (Filgueira, 2008; Van Der Waals et al., 2003; Dias e Imuati, 2005). Os sintomas da doença podem ser observados em qualquer fase de desenvolvimento das plantas, geralmente no final da fase de crescimento e são potencializados com a maturidade e o início da senescência (Dita et al., 2007; Brower, 2021).

A dispersão de *Alternaria* spp. ocorre principalmente pela ação de ventos, água de chuvas e irrigação, plantio de sementes infectadas, circulação de pessoas e equipamentos agrícolas contaminados (Töfoli et al., 2017). As condições ambientais de temperaturas quentes (20 a 32°C) e alta umidade são consideradas ideais para a ocorrência da doença (Töfoli e Domingues, 2022). Na presença de umidade e em temperatura de 28 a 30°C, os conídios germinam em aproximadamente 40 minutos. A infecção dos tubérculos ocasionalmente ocorre através de ferimentos na superfície do tubérculo. O tempo entre o início da infecção e o aparecimento de sintomas nas folhas depende das condições ambientais, idade da planta e da suscetibilidade da cultivar (Kemmitt, 2002).

Segundo Wharton e Wood (2013), a intensidade de molhamento foliar, o estado nutricional da planta e a suscetibilidade das cultivares são os fatores determinantes para a ocorrência da doença. Os autores também relatam que a redução da produção ficam em torno de 20%, mas, em alguns casos, os danos podem ser maiores. Em trabalho realizado no Brasil, Duarte et al., (2019) observaram dano de 45% da produção de batata quando realizado o cultivo com cultivares suscetíveis à doença.

No Brasil, estudos recentes com a utilização de marcadores morfológicos e análises moleculares, constataram que *A. grandis* é a espécie predominante que ataca a cultura da batata (Rodrigues, 2009; Silva, 2020). Em comparação com *A. solani*, *A. grandis* é considerada mais agressiva e adaptada, mesmo em condições de clima desfavoráveis a sua ocorrência (Cardoso, 2014; Töfoli e Domingues, 2022).

2.2.1 Os agentes causais da Pinta Preta da batateira

Inicialmente, acreditava-se que o agente causal da pinta preta no Brasil fosse *A. solani*, mas por meio da comparação de características morfológicas e estudo molecular de 19 isolados de batata oriundos do Paraná, Minas Gerais, Goiás

e Distrito Federal, Rodrigues et al., (2010) relataram que *A. grandis* é o principal agente causal da pinta preta em plantios de batata no país e ressaltou ainda que esta espécie também pode causar danos na cultura do tomate.

Peixoto (2015) por sua vez, ao avaliar 117 isolados de *Alternaria* em diferentes espécies de solanáceas no Brasil, também identificou que *A. grandis* é o agente causal da pinta preta da batata nas principais regiões produtoras do país (RS, SC, PR, SP, GO, BA, CE e DF), corroborando com o que fora descrito anteriormente. Vale ressaltar que, dos 117 isolados de solanáceas, 37 foram coletados em batata e 18 deles foram coletadas na região sul, sendo cinco no Rio Grande do Sul, nas cidades de São Francisco de Paula (3), Pelotas (1) e Bom Jesus (1), nove em Santa Catarina nas cidades de Major Vieira (3), Papanduva (3) e Canoinhas (3), além de quatro isolados em Contenda, Paraná.

Recentemente, Silva (2020) após avaliação de 74 isolados de *Alternaria* coletados em diferentes estados brasileiros produtores de batata (PR, RS, SP, MG, BA e GO) constatou 57 isolados identificados como *A. grandis*, dez como *A. alternata*, seis do complexo *A. arborencens* e um isolado foi identificado como *A. bassicola/A.mumicula*. Deste total de isolados, 18 deles foram coletados na região sul do país, dos quais 13 eram oriundos estado do Paraná, coletados em Ponta Grossa (6), Contenda (2), Irati (2), Campo Largo (1), São Mateus do Sul (1) e Guarapuava (1), enquanto os outros 5 foram coletados no Rio Grande do Sul, nas cidades de Bom Jesus (4) e São José dos Ausentes (1).

Além dessas espécies citadas, mundialmente outras espécies também têm causado doenças nos cultivos de batata, tais como *A. linariae* (Ayad et al., 2019), *A. tomatophila* (Taheri et al., 2009; Rodrigues et al., 2010), *A. cretica*, *A. interrupta* (Taheri et al., 2009), *A. tenuissima*, *A. dumosa*, e *A. infectoria* (Ardestani et al., 2010).

O gênero *Alternaria* compreende espécies denominadas de fungos imperfeitos, que não apresentam o ciclo sexual ou organização das estruturas de frutificação. Apresentam conídios multisseptados com septos alternados, fato este que caracteriza o gênero, e são produzidos em conidióforos melanizados, que possuem parede escura que protege os esporos da radiação solar e podem ser facilmente dispersos pelo vento (Woudenberg et al., 2013; Romero et al., 2020). As diferenças na sintomatologia não são muito evidentes entre as espécies *A. alternata*,

A. solani e *A. grandis*, porém, essas diferem em relação ao tamanho e morfologia dos conídios (Töfoli, 2011). Os conídios de *Alternaria solani* são geralmente individuais, ovais, podendo apresentar variações longas, curtas, largas e estreitas. Os conídios com bico único são longos, ovóides ou elipsóides com comprimento de 109-115 µm e largura entre 18-26 µm e um bico de 80-118 µm. Conídios com dois bicos podem atingir tamanhos de 80-106 µm de comprimento e 16-21 µm de largura, acrescido de um bico inicial 58-88 µm de comprimento e um segundo bico 64-88 µm. Apresentam coloração palha, parda, marrom-oliváceo ou ouro claro, com 7 a 11 septos transversais e poucos ou nenhum, longitudinais. Os conídios são inseridos em conidióforos septados retos ou sinuosos que ocorrem isolados ou em grupos, que apresentam 6 a 10 µm de diâmetro e 100 a 110 µm de comprimento e coloração idêntica aos conídios (Simmons, 2007). *Alternaria grandis* possui conídios com morfologia semelhante a *A. solani*, porém com dimensões 50 a 100 % maiores (Rodrigues; Mizubuti, 2009). Os conídios de bico único são longos, ovóides ou elipsóides com comprimento de 141-192 µm e largura entre 26-38 µm e um bico de 160-200 µm. Conídios com dois bicos possuem corpos na faixa de 128-198 µm e 24-30 µm de largura, acrescido de um bico inicial 99-160 µm de comprimento e um segundo bico de 64-88 µm (Simmons, 2007). *Alternaria alternata* apresenta conídios em forma de clava ou pêra invertidos, ovóides ou elipsóides, formados em longas cadeias, com bicos curtos, cilíndricos ou cônicos, e comprimento inferior a um terço do corpo, possui até oito septos transversais e vários longitudinais ou oblíquos (Simmons, 2007).

A ocorrência das diferentes espécies pode variar em função do local. Na Europa observa-se que a doença é causada pelo complexo *A. solani* e *A. alternata*, enquanto nos Estados Unidos prevalece *A. solani*. No Brasil, os estudos mais recentes indicam predominância de *A. grandis* causando a pinta preta da batateira (Töfoli, Domingues, Zanotta., 2017, Latorse et al., 2010; Hausladen e Leiminger, 2007; Lourenço Jr et al., 2009; Rodrigues e Mizubuti, 2009).

A identificação de espécies de *Alternaria* constitui-se em um desafio, sendo identificadas normalmente pela caracterização morfológica e cultural. No entanto, este método de identificação se mostrou insuficiente para as espécies do gênero devido fatores como baixo número de caracteres passíveis de serem analisados, alta instabilidade e dependência da composição do meio utilizado para o

crescimento da cultura, condições de incubação, além das variações intrínsecas ao patógeno (Peres et al, 2003; Simmons, 2000; Fungaro, 2000; Simmons; Roberts, 1993).

Análises adicionais de sequências de DNA de diferentes regiões genômicas são necessárias para redefinir a classificação e a filogenia das espécies de *Alternaria* (Pryor e Gilbertson 2000; Chou e Wu 2002; Pryor e Bigelow 2003; Hong et al., 2005; Lawrence et al., 2011; Woudenberg et al., 2013, 2014; Marin-Felix et al., 2019; Li et al., 2022). Estudos taxonômicos embasados em dados morfológicos e, principalmente, moleculares dividiram o gênero *Alternaria* em 29 seções, (Grum-Grzhimaylo et al., 2015; Woudenberg et al., 2013; 2014; Marin-Felix et al., 2019; Li et al., 2022). As espécies de *Alternaria* que afetam a cultura da batata, *A. solani*, *A. grandis* e *A. protenta* encontram-se na seção *Porri* (conídios médios a grandes e bicos longos) e *A. alternata*, *A. tenuissima* e *A. arborescens* na seção *Alternaria* (conídios pequenos e concatenados).

Alguns genes e regiões intergênicas mais utilizadas para distinção das espécies de *Alternaria* spp. são: ITS (*Internal transcribed space*); *Alt a 1* (*alternaria major allergen*), gene que codifica a principal proteína alergênica do gênero; *gapdh* (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), que codifica uma enzima essencial na via da glicólise e da gliconeogênese (Rodrigues et al., 2010); *rpb2* (*RNA polymerase II second largest subunit*); *tef* (*translation elongation factor*), responsável pela ligação do aminoacil-tRNA ao sítio A do ribossomo, atuando na fase de alongamento da síntese proteica (Bessadat et al., 2017; Gannibal et al., 2014; Woudenberg et al, 2013 e 2014; Marin-Felix et al, 2019; Li et al., 2022); CAL (*Calmodulin*), gene codificador de proteínas que funcionam como sensores celulares de cálcio (Lawrence et al., 2013; Peixoto, 2015; Ozkilinc et al., 2018), entre outros.

Estudando a seção *Porri* através da reconstrução filogenética das sequências de nucleotídeos concatenadas da região ITS e dos genes *gapdh*, *rpb2*, *tef-1 α* e *Alt a 1*, associadas a estudos morfológicos e características culturais, Woudenberg e colaboradores (2014) identificaram 63 espécies de *Alternaria* dentro da seção *Porri*. Nesse contexto, a análise da combinação dos genes *gapdh* e *tef-1 α* demonstram que esses genes possuem regiões informativas suficiente para identificar *A. grandis*, separando-a de outras espécies (Woudenberg et al., 2014).

2.3 CONTROLE

O controle da pinta preta da batata deve ser feito adotando-se as medidas que fazem parte do manejo integrado de doenças. Tais medidas consistem na utilização de batata-semente sadia e com brotação vigorosa para o plantio, rotação de culturas com espécies vegetais não suscetíveis, no entanto, esta medida pode não ser eficiente para o controle de *A. alternata*, devido à sua ampla gama de hospedeiros. *Alternaria solani*, *A. alternata*, *A. arborescens* e *A. tenuissima* podem sobreviver nos detritos da estação de cultivo anterior, portanto, a remoção ou enterramento de restos de plantas infectadas pode ser eficaz para reduzir a intensidade da doença. Eliminação de ervas daninhas hospedeiras, tubérculos cortados, defeituosos e pequenos para evitar o aparecimento de plantas voluntárias após a colheita evita que o fungo sobreviva nos restos de cultura deixados no solo por pelo menos um ano. Recomenda-se realizar adubação equilibrada de acordo a análise de solo, controlando principalmente os níveis de N, P, K e Mg e manejar a irrigação para que ocorra menor molhamento foliar, dando preferência para a irrigação localizada (Zambolim et al 2011; Romero et al., 2020; Budde Rodriguez, 2022).

Adiciona-se ainda, o controle genético, embasado na utilização de cultivares resistentes, que geralmente possui elevada eficiência, baixo custo e fácil manejo (Romero et al., 2020). Paralelamente, cultivares com maiores níveis de resistência necessitam de uma quantidade menor de fungicidas (Zambolim et al, 2011) e, por isso, tornam o controle genético um importante aliado no manejo integrado dessa doença. No entanto, conforme relatado por Duarte et al., (2013), cultivares de batata plantados no Brasil apresentam diferentes níveis de resistência genética à pinta preta e, ainda, aqueles mais plantados, dos quais possuem características desejáveis pelos produtores, são suscetíveis à pinta preta.

A utilização de fungicidas é a medida de controle mais utilizada para evitar reduções da produção (Romero et al., 2020). Para tanto é recomendado atomizar a lavoura com fungicidas protetores preventivamente, principalmente sob condições em que não há a presença do patógeno ou da doença instalada, visando proteger a planta antes do aparecimento da doença, e sob condições contrária, recomenda-se usar fungicidas sistêmicos, com intervalos em torno de 15 dias, visando matar o fungo presente na planta (Zambolim et al., 2011; Gudmestad et al., 2013;

Landschoot et al., 2017b). Sabendo que a maior parte dos genótipos de batata cultivados em território nacional apresentam pouca ou nenhuma resistência à pinta preta (Töfoli et al., 2016), encontrar métodos de controle eficientes que possam garantir a manutenção de níveis adequados de produtividade é desejável.

Os ingredientes ativos e seus respectivos grupos químicos registrados para o controle da doença no Brasil são: azoxistrobina, picoxistrobina, piraclostrobina, cresoxim-metílico (estrobilurina); cimoxanil (acetamida); mancozebe, propinebe e metiram (ditiocarbamatos); ciprodinil e pirimetanil (anilinopiramidina); fluxapirroxade, boscalida (carboxamida); captana, iprodiona e procimidona (dicarboxamida); fluazinam (fenilpiridinilamina); fenamidona (imidazolinona); hidróxido de cobre, oxicloreto de cobre, sulfato de cobre e óxido cuproso (inorgânicos); clorotalonil (isoftalonitrila); famoxadona (oxazolidinadiona); difeconazol, bromuconazol, flutriafol, metconazol, tebuconazol e miclobutanil (triazol) e bentiavalicarbe isopropílico (vanilamida carbamato) (AGROFIT, 2024).

Embora se tenha uma ampla gama de produtos disponíveis passíveis de utilização em território nacional, por meio de um levantamento com representantes técnicos de empresas e produtores, foi identificado que ciprodinil, pirimetanil, iprodiona e procimidona são os ingredientes ativos amplamente utilizados na Região Sul do Brasil¹. Em decorrência do controle químico, problemas relacionados à perda de sensibilidade e resistência do patógeno a estes fungicidas devem ser investigados, visando definir as melhores estratégias para o uso racional desta prática.

2.4 RESISTÊNCIA DE FUNGOS A FUNGICIDAS

O modo de ação dos fungicidas, bem como a sua sistemicidade, está diretamente relacionado com a ocorrência da resistência. Os fungicidas protetores possuem modo de ação não específico. Em contrapartida, os sistêmicos têm um espectro de ação limitado e modo de ação específico (Parreira, Neves e Zambolim, 2009). O modo de ação refere-se ao processo celular específico inibido por um fungicida específico. Os fungicidas com modos de ação semelhantes são agrupados pelo Comitê de Ação de Resistência aos Fungicidas (FRAC) para ajudar a prolongar a eficácia dos fungicidas (FRAC, 2023). De acordo com Reis, Reis e Carmona (2019) a resistência pode ser definida como uma mudança estável e hereditária do

comportamento de um fungo em resposta a utilização de fungicidas, resultando na redução de sensibilidade do patógeno. Assim, a constante pressão de seleção promovida pelo intenso uso de fungicidas sistêmicos, pode resultar em populações resistentes do patógeno ao longo do tempo (Rodrigues et al., 2007; Zambolim et al., 2007; Parreira, Neves e Zambolim, 2009).

Na literatura, trabalhos recentes reportam a resistência de *Alternaria* spp. à fungicidas de diferentes grupos químicos, como os Qol's – Inibidores da Quinona Externa (Pasche et al., 2002; Ma e Michailides, 2004; Tymon e Johnson, 2014; Ding et al., 2019; Odilbekov et al., 2019), SDHI – Inibidores da Succinato Desidrogenase (Tymon e Johnson, 2014; Fairchild, Miles e Wharton, 2013; Landschoot et al., 2017b), DMI's – Inibidores da Desmetilação (Yang, 2019; Fonseka e Gudmestad, 2016), dicarboxamidas (Kim, Lee e Kim, 2017), e anilinopirimidina (Fairchild, Miles e Wharton, 2013; Fonseka e Gudmestad, 2016), por exemplo. Ainda que a resistência de *Alternaria* spp. seja conhecida, nenhum dos trabalhos citados apresentaram estudos com foco sobre *A. grandis* e na região sul do Brasil, visto que é um polo de produção da cultura da batata.

O grupo químico das dicarboxamidas compreende os fungicidas que atuam na via de transdução de sinal, bloqueando a enzima da histidina-quinase, como os fungicidas iprodiona e procimidona, e são considerados fungicidas com médio risco para resistência (FRAC, 2022). As dicarboxamidas apresentam eficácia sobre fungos de diferentes gêneros, tais como *Alternaria*, *Sclerotinia* e *Botrytis*, por exemplo (Steel e Nair, 1995; Dry et al., 2004). Entretanto, a resistência a esse grupo tem sido relatada em diversos fungos fitopatogênicos, incluindo *Alternaria* spp. (Dry et al., 2004; Avenot et al., 2005; Luo et al., 2008, 2012), *Sclerotinia* spp. (Ma et al., 2009; Kuang et al., 2011; Duan et al., 2013), *B. cinerea* (Fraile et al., 1986; Oshima et al., 2002; Cui et al., 2004; Grabke et al., 2014), *Magnaporthe grisea* (Motoyama et al., 2005), *Stemphylium vesicarium* (Alberoni et al., 2010), *Neurospora crassa* (Fujimura et al., 2000; Miller et al., 2002) e *Cochliobolus heterostrophus* (Yoshimi et al., 2003, 2004).

Para *B. cinerea*, a mutação do fungo à iprodiona está associada a modificações na histidina-quinase (HK) de classe III de osmossensor, que afeta os domínios HAMP (Fillinger et al., 2012). Mutações em HK1 (inserção ou deleção) de *A. alternata* levam à terminação prematura da proteína HK (Dry et al., 2004). Da

mesma forma, diversas mutações são encontradas em NIK1 (gene ortólogo *nik1/os1*) de *Alternaria brassicicola*, incluindo mutações sem sentido, deleção, e uma substituição de um único aminoácido (E753K) (Avenot et al., 2005), enquanto deleções e substituições de um único aminoácido são detectadas em HK1 de *Alternaria longipes* (Luo et al., 2008; 2012).

Kim, Lee e Kim (2017) ao estudar as alterações morfogênicas de *A. alternata* em cactos (*Gymnocalycium mihanovichii*) exposta à iprodiona na Coreia do Sul, encontraram redução da sensibilidade do fungo frente ao fungicida e, após realização de microscopia eletrônica, sugerem que tal fato pode ser explicado por mudanças morfológicas, onde ocorreu o aumento da espessura da parede celular interna e externa dos conídios.

Anilino pirimidina é o nome do grupo químico dos fungicidas que atuam na inibição da biossíntese de metionina, sendo fortemente utilizados de maneira preventiva, visando a inibição do tubo germinativo, formação do apressório e crescimento micelial (Gisi, Müller e Hall, 2019). De acordo com Töfoli et al., (2015) e Gisi, Müller e Hall (2019), estes fungicidas também podem inibir a secreção de enzimas hidrolíticas no processo de penetração e infecção do fungo nos tecidos do hospedeiro podendo ser considerados uma boa opção no programa de manejo da doença. Entre os ingredientes ativos registrados para a cultura da batata no Brasil, ciprodinil e pirimetanil são amplamente utilizados para controle de *Alternaria* spp. na região sul do país.

O fungicida ciprodinil foi introduzido em 1995 e descobriu-se que tem ação protetora e curativa contra certos patógenos (Knauf-Beiter et al., 1995). O pirimetanil foi originalmente registrado nos Estados Unidos em 2004 como fungicida pós-colheita para frutas pomáceas e foi registrado para controle da pinta preta em batata em 2005 (Li e Xiao, 2008). Quando usados em rotação com outros produtos químicos, os fungicidas desse grupo são eficientes na prevenção de doenças em patógenos como *B. cinerea* e *V. inaequalis* (Köller et al., 2005; Zhao et al., 2010). Segundo o FRAC (2022) os fungicidas do grupo das anilino pirimidinas possuem risco médio de resistência. No entanto, a resistência para esses fungicidas foi detectada em *B. cinerea* (Amiri et al., 2013; Chapeland et al., 1999; Fernández-Ortuño et al., 2013; Hilber e Hilber-Bodmer, 1998; Latorre et al., 2002; Leroux et al., 1999; Moyano et al., 2004; Myresiotis et al., 2007; Sun et al., 2010; Maia et al.,

2023), *Oculimacula* spp. (Leroux et al., 2013), *Penicillium digitatum* e *Penicillium expansum* de maçã e frutas cítricas, respectivamente, (Kanetis et al., 2008; Xiao et al., 2011) e *V. inaequalis* de maçã (FRAC 2015). Foram encontrados nos últimos anos com baixa frequência, isolados de *A. solani* e *A. alternata*, com sensibilidade reduzida ao pirimetanil, portanto, o pirimetanil ainda é considerado eficaz no manejo da pinta preta e da mancha marrom. Ainda assim, os mecanismos de resistência a esse grupo são desconhecidos (Fairchild et al., 2013; Fonseca e Gudmestad, 2016).

3 . MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ISOLAMENTO E ARMAZANAMENTO

Os isolados de *Alternaria* spp. foram obtidos nas safras 2021/2022 e 2022/2023 em campos comerciais de produção de batata que abrangem a região Sul do Brasil, nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Um total de 100 isolados obtidos de plantas com folhas sintomáticas foram coletados apresentando lesões com formato circular, elípticas ou angulares, de coloração pardo-escuras, isoladas ou em grupos com a presença de anéis concêntricos e bordos bem definidos. As amostras foram levadas ao Laboratório de Epidemiologia e Manejo Integrado de Doenças (LEMID) da Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, Paraná.

O isolamento do fungo foi realizado através do método indireto, onde foram cortados pequenos fragmentos do tecido lesionado em transição ao tecido sadio. Estes foram lavados em água corrente e submetidos à desinfestação utilizando álcool 70% durante um minuto, seguido de hipoclorito de sódio (0,5%) por três minutos, seguido de três lavagens em água destilada esterilizada. Os fragmentos foram enxutos em papel filtro esterilizado e transferidos para placas de petri contendo meio de cultura batata dextrose ágar (BDA), suplementadas com $900 \mu\text{L.L}^{-1}$ de ácido láctico ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$). As placas foram incubadas em câmara de crescimento com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas durante quatro dias (Alfenas e Mafia, 2016).

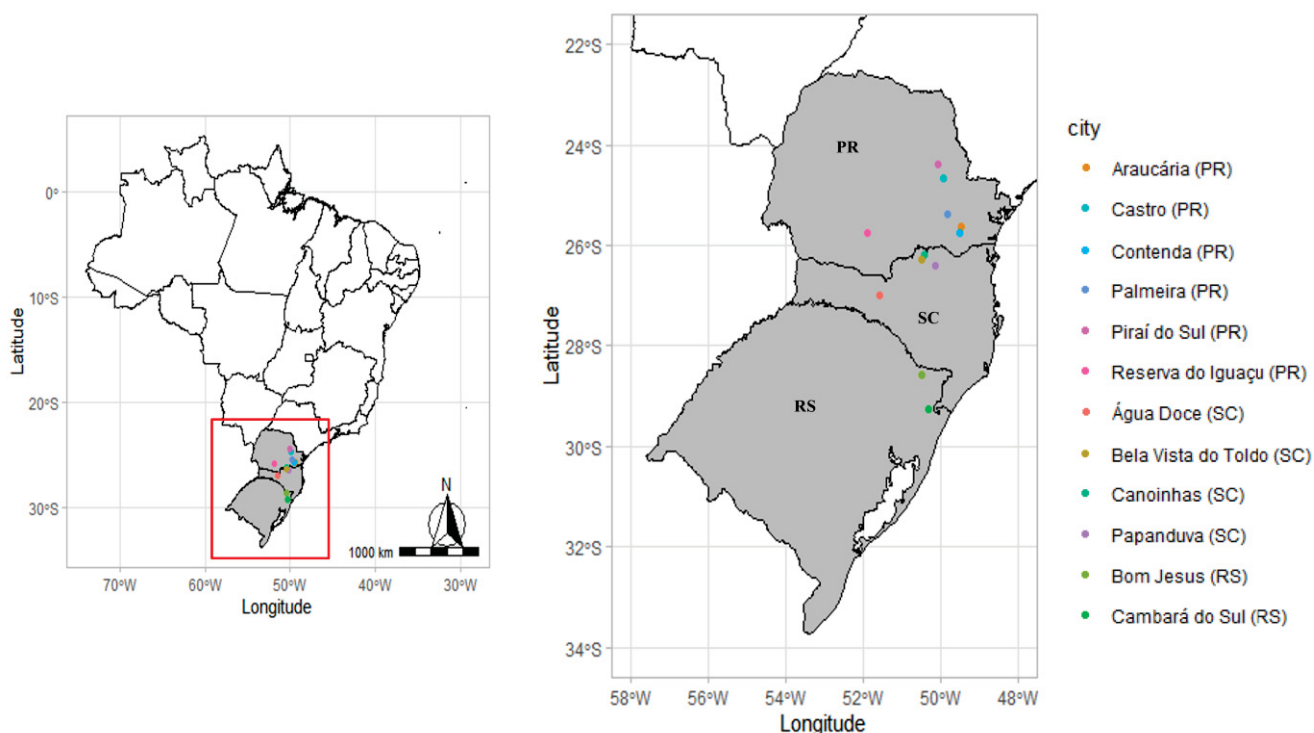
Após incubação, discos de micélio (5 mm) foram transferidos para uma nova placa, contendo meio de cultura V8 ágar- CaCO_3 (100mL de suco de vegetais V8, 20g de ágar, 10g de carbonato de cálcio e 900mL de água destilada) e novamente incubados em câmara de crescimento. Porém, desta vez, as placas foram expostas

à 27°C e em luz negra (“near-ultraviolet-NUV” = 320 a 400nm), com fotoperíodo de 12h, visando potencializar a esporulação, conforme proposto por Rodrigues (2005). Após sete dias, fez-se o isolamento monospórico, seguindo a metodologia descrita por Alfenas e Mafia (2016). Os isolados obtidos foram armazenados na coleção fitopatológica do Laboratório de Epidemiologia para Manejo Integrado de Doenças de Plantas (LEMID), na Universidade Federal do Paraná, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, com o código de referência para a cultura da batata (TABELA 1). Os isolados foram preservados em discos de papel filtro com sílica gel, glicerol 30% em freezer -20°C e em placas de petri em refrigerador a 4°C.

3.2 IDENTIFICAÇÃO DE *Alternaria* spp.

A partir das culturas monospóricas, 44 isolados (TABELA 1) foram selecionados com conídios caracterizados por terem bico único e longos, ovóides ou elipsóides podendo atingir comprimento 141-192 µm e largura entre 26-38 µm e um bico de 160-200 µm. Em alguns casos, foram selecionados isolados com conídios de dois bicos com corpos na faixa de 128-198 µm e 24-30 µm de largura, acrescido de um bico inicial 99-160 µm de comprimento e um segundo bico de 64-88 µm (Simmons, 2007). Esses isolados representaram 12 cidades dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (FIGURA 1).

FIGURA 1. Representação de 12 cidades nas quais foram coletados isolados de esporos grandes.



FONTE: O autor (2024)

Para a identificação molecular dos 44 isolados de *Alternaria* spp. foi realizada extração de DNA de cada isolado utilizando o protocolo CTAB (Pereira et al., 2019). Os DNAs foram ressuspensos em 25 uL de água ultrapura, quantificados em nanodrop One (*Thermo scientific*) e armazenados em freezer -20 °C. O DNA de cada isolado foi utilizado como molde para amplificar por PCR regiões parciais dos genes *tef-1α* (fator de elongação 1-alfa) e *gapdh* (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase), que são capazes de distinguir espécies da seção *Porri* (Woudenberg et al., 2014).

Todas as reações foram realizadas em um volume total de 25 µL, adicionando-se 2uL DNA total (40 ng/uL), 12,5 uL de tampão GoTaq® Flexi (Promega, Madison, WI, EUA), 1uL de cada *primer* (10uM) (TABELA 2), completando o volume com 8,5 uL de H₂O ultrapura *nuclease free*. O termociclador utilizado foi do modelo Veriti Thermal Cycler Life Technologies (Thermo Fisher Scientific). Os primers e as condições da PCR estão descritos na TABELA 2. Uma alíquota do produto de PCR foi submetida a eletroforese em gel de agarose 1% com tampão TBE 0,5X (TBE 10X: 107,8g Tris base; 7,44g EDTA; 55,0g ácido bórico anidro; pH 8,3), corado com gelRed (Biotium) e fotodocumentado em transiluminador

ultravioleta (Loccus Biotecnologia) para verificar o produto da amplificação. Os amplicons foram purificados (ExoSAP-IT) e sequenciados em um sequenciador (Applied Biosystems 3730xl Genetic Analyzer) com os mesmos primers utilizados para amplificação.

As sequências de nucleotídeos (*forward* e *reverse*) de cada isolado/gene obtidas foram avaliadas quanto à qualidade de sequenciamento com base nos respectivos eletroferogramas, com o auxílio do software SeqAssem (Hepperle, 2004). Após correção manual, as sequências consenso foram geradas e comparadas com sequências disponíveis no GenBank do NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), por meio da ferramenta BLASTn. A identidade das sequências foi maior que 99% com outras espécies que se enquadram na seção *Porri*, assim, direcionando a seleção de 67 acessos de *Alternaria* spp. classificadas como tipo (T) e/ou representativa (R) dentro desta seção (Woudenberg et al., 2013; Woudenberg et al., 2014). As sequências obtidas neste estudo serão depositadas no banco de dados do GenBank e os códigos de acesso das sequências utilizadas para os estudos filogenéticos encontram -se na TABELA 4.

As sequências das diferentes regiões gênicas (TABELA 3) foram alinhadas utilizando o MAFFT v.7 (online) (Katoh e Standley, 2013) e ajustadas manualmente no MEGA 7 (Kumar et al., 2016). Análises filogenéticas de Inferência Bayesiana (IB) e Máxima verossimilhança (ML) foram realizadas separadamente, com auxílio do software PhyloSuite (Zhang et al., 2020), com os genes *tef-1 α* e *gapdh* concatenados. Dentro do programa foi utilizado o plugin ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017) determinando o melhor modelo evolutivo para cada região genômica. Os valores de *Score* foram calculados e o modelo foi selecionado de acordo com o Critério de Informação de Akaike corrigido (AICc).

As análises filogenéticas dos dados das sequências consistiram em análises Bayesianas e de Máxima verossimilhança das partições de dados individuais, bem como do conjunto de dados alinhados combinados.

A reconstrução da árvore filogenética de IB foi gerada por meio do algoritmo de Markov Chain Monte Carlo (MCMC), com probabilidade posterior Bayesiana (BPP), utilizando o plugin MrBayes (Ronquist e Huelsenbeck, 2003), selecionando “partition models”, com 10.000.000 de gerações de árvores aleatórias, sendo as árvores amostradas a cada 1.000 gerações, resultando em 10.000 árvores. As

primeiras árvores foram descartadas da análise (*burn-in* de 25%) para eliminação do efeito inicial do processo iterativo e os valores da BPP foram determinados a partir da árvore consenso por meio das 7.500 árvores remanescentes. As análises foram finalizadas quando o desvio padrão médio das frequências divididas estava abaixo de 0,01.

Para a árvore filogenética de ML foi utilizado o plugin IQ-TREE versão 1.6.8 (Ronquist e Huelsenbeck, 2003), selecionando bootstrap ultrarrápido com 5000 repetições, 1000 interações e valor mínimo de coeficiente de correlação de 0,99. *Alternaria gypsophilae* (CBS 107.41) foi utilizada como *outgroup* (Woudenberg et al., 2014) para ambas as análises IB e ML.

Os resultados das árvores filogenéticas foram visualizados utilizando o software FigTree v.1.4.4 (Rambaut, 2018) e exportados para edição em programa gráfico inkscape (www.inkscape.org/).

3.3 SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS

A sensibilidade dos isolados de *Alternaria grandis* aos fungicidas iprodiona (Rovral® SC, Basf Agri Production SA), procimidona (Sumilex® 500 WP, Sumitomo), ciprodinil (UNIX® 750 WG, Syngenta) e pirimetanil (Mythos®, Bayer CropScience LA) foi avaliada. Os fungicidas foram escolhidos a partir de um levantamento com representantes técnicos de empresas e produtores dos fungicidas mais utilizados nos estados da região Sul do Brasil¹ para o controle da pinta preta. Foram realizadas doses discriminatória de 0; 10,0 e 100,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ com intuito de ajustar as doses para determinar a concentração efetiva para inibir 50% do crescimento do fungo (CE_{50}).

Para os fungicidas comerciais iprodiona e procimidona foram utilizadas doses 0; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para isolados que foram inibidos com pelo menos 50% do crescimento micelial na dose discriminatória até 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e para aqueles que ultrapassaram essa faixa, foram utilizadas as doses 0; 10,0; 20,0; 40,0; 60,0; 80,0 e 100,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os ingredientes ativos foram diluídos em água destilada esterilizada a fim de se obter as soluções estoques para serem adicionadas ao meio de cultura batata-dextrose-água (BDA) autoclavado e mantidos a 60°C. Para os fungicidas ciprodinil e pirimetanil, foram utilizadas doses 0; 0,0001; 0,001; 0,01; 0,1; 1 e 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para isolados que foram inibidos com pelo menos 50% do crescimento micelial na dose discriminatória até 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e para aqueles

que ultrapassaram essa faixa, foram utilizadas as doses 0; 25,0; 50,0; 75,0; 100,0; 150,0 e 200,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os ingredientes ativos foram diluídos em água destilada esterilizada a fim de se obter as soluções estoques para serem adicionadas ao meio de cultura asparagina-ágar autoclavado e mantidos a 60°C. Os meios de cultura foram adicionados em placas de Petri de 90 mm e discos de micélio de 5 mm de diâmetro retirados de colônias com sete dias de cultivo foram depositados na superfície do meio de cultura. Foram utilizadas duas placas/isolado/dose. As placas foram incubadas a 25°C sem a presença de fotoperíodo por sete dias. O diâmetro da colônia foi obtido por meio da média de duas medidas perpendiculares da colônia utilizando um paquímetro digital (PD153/Vonder).

O cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial foi realizado usando a fórmula $\% \text{ICM} = [(C-T)/C] \times 100$, na qual C refere-se ao diâmetro da testemunha e T ao diâmetro médio do tratamento com fungicida. Regressões lineares entre os valores de %ICM e das concentrações dos fungicidas em $\log_{10}$ foram utilizadas para estimar a CE_{50} .

4. RESULTADOS

4.1 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

Por PCR foi possível amplificar fragmentos de 500 e 750 pares de bases (pb) correspondentes aos genes parciais *tef-1 α* e *gapdh*, respectivamente, dos 44 isolados selecionados.

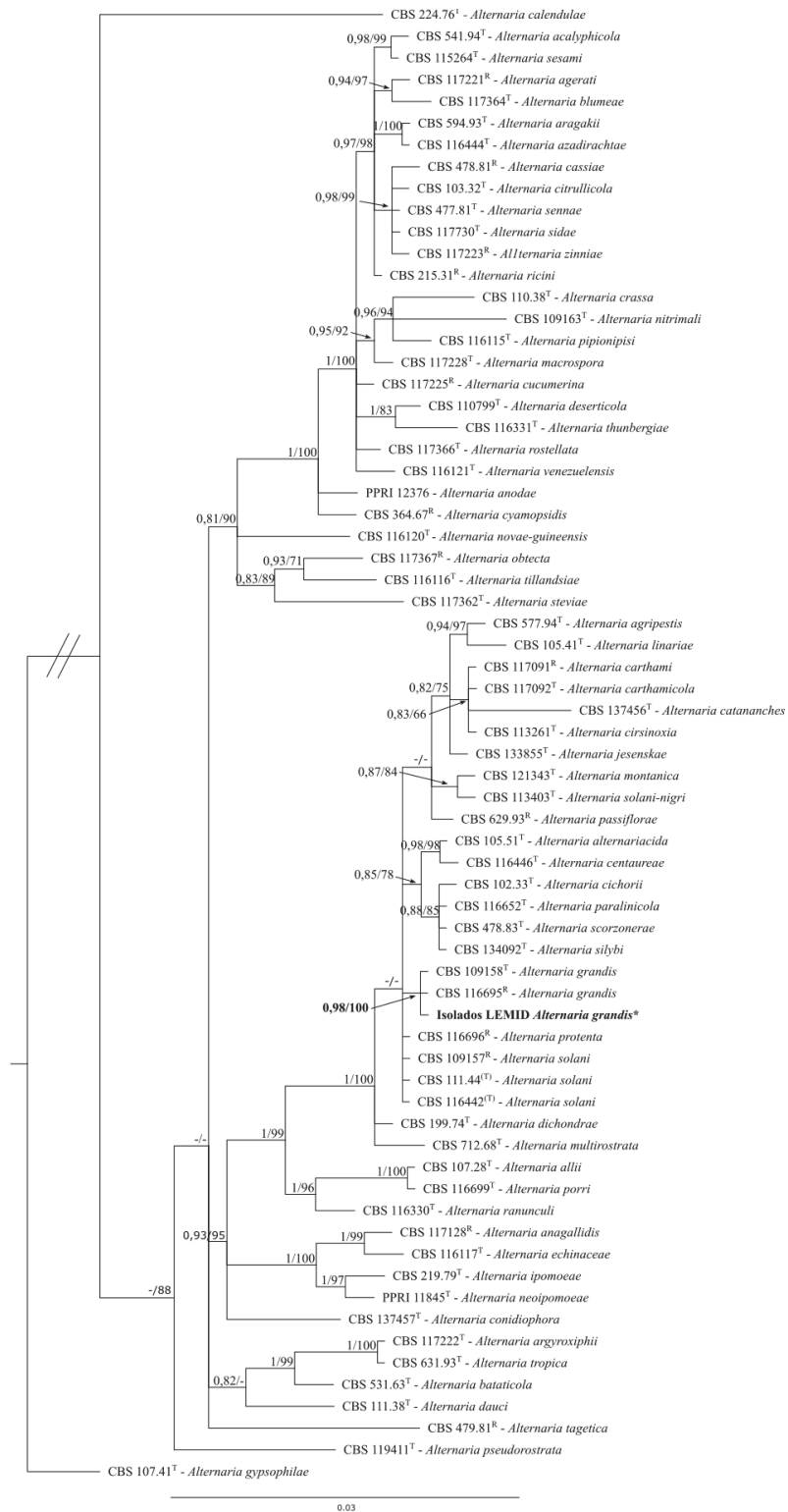
Após sequenciamento dos amplicons, as sequências consenso de todos os isolados apresentaram 100% de identidade com sequências de nucleotídeos dos mesmos genes de *A. grandis* (CBS 109158; acesso no GenBank: *tef-1 α* : EU130547; *gapdh*: JQ646341), classificada dentro da seção *Porri*.

A topologia das árvores filogenéticas obtidas por IB e ML a partir dos genes concatenados concordaram entre si e agruparam todos os isolados em clados semelhantes pelos dois métodos (FIGURA 2), sendo escolhido a topologia de IB para demonstrar os resultados.

Os 44 isolados provenientes deste estudo (TABELA 1), se agruparam no clado de *A. grandis*, com valor de PP igual a 0,98 e bootstrap igual a 100% (FIGURA 2). Desta forma, os dados indicam, com robusto suporte tanto por IB quanto por ML,

que todos os isolados correspondem à espécie *A. grandis*, formando um grupo monofilético.

FIGURA 2. ÁRVORE FILOGENÉTICA POR INFERÊNCIA BAYESIANA (BI)



FONTE: O autor (2024)

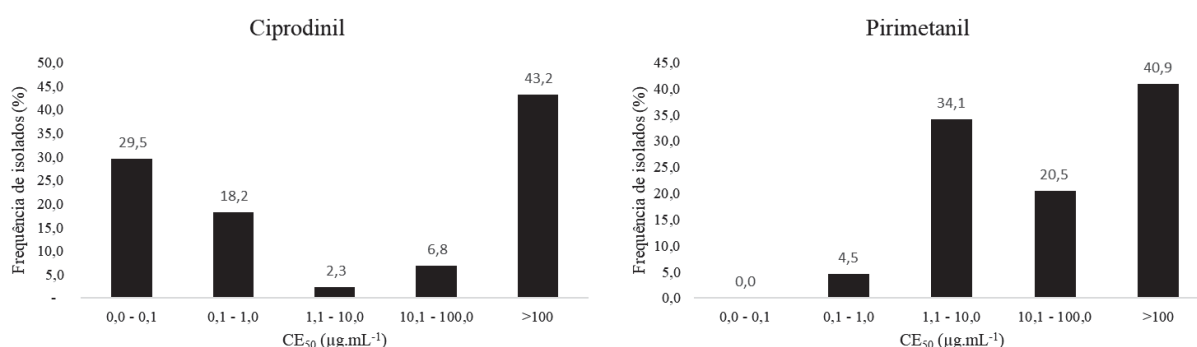
LEGENDA: Árvore elaborada a partir de sequências concatenadas de 914 nt referentes aos genes *gapdh* (1-577 nt) e *tef-1α* (578-914 nt) de 4* isolados de *Alternaria* spp. Os suportes de PP >0,75 da análise por IB e os suporte de bootstrap RAXML >65 (ML) estão indicados à esquerda dos nós (PP/ML). As espécies tipo são indicadas com T e as espécies representativas com R. A árvore foi enraizada com o *outgroup* *A. gypsophilae* (CBS 107.41).

4.2 SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Alternaria grandis* A FUNGICIDAS

Os resultados de CE_{50} para os 44 isolados de *A. grandis* demonstraram uma grande amplitude de valores. Para os fungicidas ciprodinil e pirimetanil, os valores ficaram entre 0,02 a >100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e 0,9 a >100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Para iprodiona e procimidona os valores variaram entre 0,08 a 9,15 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e 1,27 a >10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente (TABELA 4).

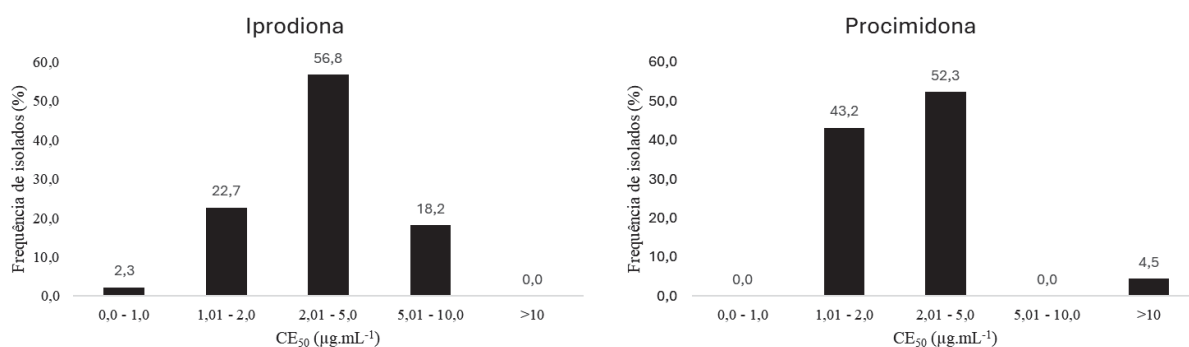
A distribuição de frequência dos valores de CE_{50} com cinco diferentes intervalos de CE_{50} estão demonstrados nas figuras 3 e 4 para os diferentes fungicidas. Para ciprodinil a frequência dos isolados foi maior nas doses entre 0 e 1 e >100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Para pirimetanil as maiores frequências foram em doses que variaram de 1,1 até >100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Para os fungicidas do grupo das dicarboxamidas, a frequência de CE_{50} da maioria dos isolados estudados ficou entre doses que variaram de 1,0 a 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para iprodiona, não sendo observados isolados com CE_{50} >100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Para procimidona a distribuição ficou entre 1,01 a 5,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Apenas dois isolados apresentaram crescimento em doses >10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

FIGURA 3. DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA DOS VALORES DE CE_{50} PARA CIPRODINIL E PIRIMETANIL DE 44 ISOLADOS DE *A. grandis* COLETADOS EM DIFERENTES REGIÕES DO SUL DO BRASIL.



FONTE: O autor (2024)

FIGURA 4. DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA DOS VALORES DE CE₅₀ PARA CIPRODINIL E PIRIMETANIL DE 44 ISOLADOS DE *A. grandis* COLETADOS EM DIFERENTES REGIÕES DO SUL DO BRASIL.



FONTE: O autor (2024)

5. DISCUSSÃO

Os estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul são grandes produtores de batata, mas os cultivos têm sido afetados pela pinta preta causada principalmente pelo fungo *Alternaria grandis*. Os fungicidas ciprodinil, pirimetanil, iprodiona e procimidona são amplamente utilizados nos cultivos de batata para o controle da pinta preta. O estudo da CE₅₀ para os isolados de *A. grandis* utilizando esses ingredientes ativos, demonstrou uma amplitude de valores, onde obteve-se isolados mais sensíveis que outros.

Assim, monitorar a resposta de *Alternaria* spp. e conhecer a dinâmica das populações desse patógeno, e alterações na sensibilidade a diferentes grupos de fungicidas é fundamental para garantir a escolha de ingredientes ativos eficientes. A utilização de múltiplas classes de fungicidas com diferentes modos de ação em programas de rotação de fungicidas poderá salvaguardar as opções de fungicidas para os produtores agrícolas, evitando-se assim, contaminações ambientais e usos de ingredientes ativos desnecessários.

Os estudos de sensibilidade de fungicidas relacionados a *Alternaria grandis* são escassos, no entanto, a resistência a dicarboxamidas e anilino pirimidina de *Alternaria* spp. é conhecida (Kim, Lee e Kim, 2017; Fairchild, Miles e Wharton, 2013; Fonseka e Gudmestad, 2016). Neste estudo o fungicida ciprodinil apresentou as

maiores frequências de CE_{50} dos isolados de *A. grandis* variando entre as doses 0 e 1 e $>100 \text{ ug.mL}^{-1}$. Avenot e Michailides (2015) ao testar esse ingrediente ativo para *A. alternata* em pistache variando doses de 0 a 10 ug.mL^{-1} , obteve que seus isolados se mostraram a maioria sensíveis a esse fungicida, entretanto, sete isolados foram classificados com resistência intermediária, onde não obtiveram inibição entre 50 a 75% em dose de 10 ug.mL^{-1} . E sete isolados foram considerados resistentes, obtendo o valor de CE_{50} maior que 10 ug.mL^{-1} .

Os resultados do fungicida pirimetanil, demonstraram que as maiores frequências ocorreram em doses que variaram de 1,1 até $>100 \text{ ug.mL}^{-1}$, observando-se que a maioria dos isolados não foi inibida em doses menores que 10 ug.mL^{-1} . Estudos relacionados a isolados de *A. alternata* e *A. solani* oriundos de cultivos de batata obtiveram a maioria dos isolados sensíveis a esse fungicida, mas foi apontada resistência e perda de sensibilidade em alguns isolados. Por exemplo, Fairchild et al., (2013) relataram que 11% dos seus isolados de *A. alternata* e 19% dos isolados de *A. solani* foram resistentes ao pirimetanil, apresentando crescimento micelial em dose de 507 ppm; Fonseka e Gudmestad (2016) relataram que seis dos 245 isolados de *A. solani* coletados de 2010 a 2014 exibiram sensibilidade reduzida ao fungicida em ensaios *in vitro*. Além disso, os isolados de sensibilidade reduzida não foram controlados em testes de eficácia *in vivo* em estufa na maioria das doses de pirimetanil, exceto a 100 ug.mL^{-1} .

Os fungicidas do grupo das anilino pirimidinas possuem risco médio no desenvolvimento de resistência a fungicidas em patógenos fúngicos (FRAC, 2022). No entanto, a resistência para esses fungicidas foi detectada em *B. cinerea* (Amiri et al., 2013; Chapeland et al., 1999; Fernández-Ortuño et al., 2013; Hilber e Hilber-Bodmer, 1998; Latorre et al., 2002; Leroux et al., 1999; Moyano et al., 2004; Myresiotis et al., 2007; Sun et al., 2010; Maia et al., 2023), *Oculimacula* spp. (Leroux et al., 2013), *Penicillium digitatum* e *Penicillium expansum* isolados de maçã e frutas cítricas, respectivamente, (Kanetis et al., 2008; Xiao et al., 2011) e *V. inaequalis* de maçã (FRAC, 2015).

O fungo *Botrytis cinerea* é considerado um patógeno de alto risco para o desenvolvimento de resistência a fungicidas e a resistência ao grupo das anilino pirimidinas é comum em algumas culturas agrícolas e estufas (Brent e Holloman, 2007b). Fenótipos de resistência em *B. cinerea* foram detectados com

níveis de resistência variando de baixo a muito alto (Leroux et al., 1999; Myresiotis et al., 2007). Também já foi relatada a resistência cruzada entre os fungicidas dessa classe para esse fungo (Hilber e Schüepp 1996; Latorre et al., 2002; Myresiotis et al., 2007; Maia et al., 2023). Acredita-se que o modo de resistência de um único gene resultou em aproximadamente 50% de isolados resistentes em alguns estudos de pesquisa focados na resistência de *B. cinerea* em anilinopirimidinas (Amiri et al., 2013; Fernández-Ortuño et al., 2013; Myresiotis et al., 2007). Assim, sugere-se que a mudança na sensibilidade deve ser rápida uma vez detectadas cepas resistentes. Em contraste, o isolado de campo *Oculimacula* spp. (anteriormente *Tapesia* spp.) apresentou uma mudança gradual na sensibilidade, sugerindo controle poligênico da resistência (Babij et al., 2000). Portanto, pode haver mais de um mecanismo de resistência para *Alternaria* spp. a anilinopirimidinas.

O principal modo de ação ainda não foi descoberto para anilinopirimidinas, portanto, o mecanismo de resistência é atualmente desconhecido para este grupo de fungicidas estabelecido. O risco de desenvolvimento de resistência ao pirimetanil em *A. solani* pode ser aumentado devido à resistência pré-existente a outros fungicidas como os Qol e boscalida (Fonseka e Gudmestad, 2016). O mesmo pode acontecer para os isolados de *A. grandis* no sul do Brasil, pois a redução da sensibilidade as anilinopirimidinas foi observada nesse estudo.

Um recente estudo feito nos Estados Unidos avaliando *A. alternata*, *A. arborescens*, *A. solani* e *A. tenuissima* em batata para ambos os fungicidas desse grupo, mostrou que todos os isolados foram sensíveis com CE₅₀ que variaram de 0.1 a 5.85 µg.mL⁻¹ (Budde Rodriguez et al., 2022), demonstrando que não há redução de sensibilidade a esses fungicidas e ainda são eficientes para o controle de *Alternaria* spp. nesse local. Esse estudo demonstra que um manejo adequado e o uso racional desses fungicidas, pode proporcionar um controle efetivo, assim, a adequação no manejo da pinta preta pode mudar o cenário previsto.

Para os fungicidas do grupo das dicarboxamidas, iprodiona obteve CE₅₀ de todos os isolados abaixo de 10,0 µg.mL⁻¹. Um estudo feito por Malandrakis (2015) com isolados de *A. alternata* oriundos de cultivo de tomate, obteve CE₅₀ até 10 µg.mL⁻¹, corroborando com esse estudo. Todavia, foi encontrado um isolado que não foi inibido nessa dose, sendo considerado com sensibilidade reduzida.

Para procimidona a maioria dos isolados de *A. grandis* foram sensíveis, obtendo inibição em valores de CE_{50} até $3,74 \text{ ug.mL}^{-1}$, mas dois isolados apresentaram CE_{50} maior que 100 ug.mL^{-1} . Essa frequência corrobora com estudos feitos em batata no Brasil. Usando procimidona em isolados de *A. solani* e *A. grandis* em cultivos de batata, Nossllala, (2016) obteve inibição em doses menores que $1,0 \text{ ug.mL}^{-1}$, vale ressaltar, que um dos isolados de *A. grandis* foi coletado no estado do Paraná. Em contrapartida, a resistência de *Alternaria* spp. as dicarboxamidas é conhecida. Visto que foram encontrados isolados menos sensíveis neste estudo, o monitoramento do risco de ocorrência de resistência a esse grupo é imprescindível.

A resistência à dicarboxamida foi registrada em muitos patógenos de plantas, incluindo *Alternaria* spp. (Dry et al., 2004; Avenot et al., 2005; Luo et al., 2008, 2012), *Sclerotinia* spp. (Ma et al., 2009; Kuang et al., 2011; Duan et al., 2013), *B. cinerea* (Fraile et al., 1986; Oshima et al., 2002; Cui et al., 2004; Grabke et al., 2014), *Magnaporthe grisea* (Motoyama et al., 2005), *Stemphylium vesicarium* (Alberoni et al., 2010), *Neurospora crassa* (Fujimura et al., 2000; Miller et al., 2002) e *Cochliobolus heterostrophus* (Yoshimi et al., 2003, 2004).

As mutações de HK1s estão envolvidas no desenvolvimento de resistência a dicarboxamidas em patógenos fúngicos (Dry et al., 2004; Wang et al., 2021). A estrutura típica das HKs fúngicas do grupo III dos principais fungos fitopatogênicos é composta por três domínios: Histidina quinases, Adenilato ciclases, Proteínas aceitadoras de metila e Fosfatases (HAMPs, funcionalmente denominadas como “domínio sensor”) em um terminal N altamente variável, um terminal central domínio transmissor composto por histidina quinase A (HisKA) e subdomínios catalíticos ATPase semelhantes a histidina quinase (HATPase_c) e um domínio receptor C-terminal abrigando uma assinatura de três aminoácidos (DDK) (Herivaux et al., 2016). Diversos tipos de mutações foram relatadas em *A. alternata*, *A. arborescens* e *A. brassicicola*, em diferentes cultivos, como repolho, brócolis, maracujá e pistache, onde foram encontradas deleções ou inserções em HAMPs, ou entre os domínios HATPase_c e domínio regulador da resposta (Rec) (Wang et al., 2021; Dry et al., 2004; Ma e Michalides, 2004; Avenot et al., 2005).

A resistência a esse grupo de fungicidas é considerada de ocorrência de médio risco (FRAC, 2022), entretanto, observamos que já foi relatada em diversos fitopatógenos, e os mecanismos de resistência podem ser facilmente desenvolvidos

em cultivos onde há o uso indiscriminado de dicarboxamidas, assim pode se dizer que a ocorrência da resistência depende da reprodutibilidade do patógeno com relação a área de cultivo em que se trata. Visto isso, os produtores devem ser incentivados a realizar um manejo consciente de acordo com a necessidade de cada um.

Esses produtos químicos continuam sendo opções valiosas para programa de rotação de fungicidas em áreas de alta pressão da doença. Os estudos de monitoramento são valiosos para a utilização contínua desses produtos químicos em programas de gestão de doenças. Desta forma, os fungicidas citados nesse estudo devem ser usados em rotação com outros fungicidas sistêmicos e protetores, com diferentes modos de ação (por exemplo, Qols, DMIs ou SDHIs) que não foram avaliados nesse estudo, para salvaguardar sua eficácia. Assim, será possível atrasar o desenvolvimento de populações de *A. grandis* com sensibilidade reduzida ou até mesmo resistentes a anilinopirimidinas e dicarboxamidas nesses campos.

6. CONCLUSÃO

A avaliação quanto a sensibilidade dos fungicidas anilinopirimidinas mostrou uma amplitude de valores de CE_{50} dos isolados de *A. grandis*, obtendo valores que variaram entre 0,02 e $>100 \text{ ug.mL}^{-1}$ para ciprodinil, e 0,9 até $>100 \text{ ug.mL}^{-1}$ para pirimetanil. Foi observado altas frequências em dose maior que 100 ug.mL^{-1} sendo assim alguns isolados mais sensíveis que outros.

Para os fungicidas do grupo das dicarboxamidas, os valores de CE_{50} para iprodiona e procimidona variaram entre 0,08 a $9,15 \text{ ug.mL}^{-1}$, e 1,27 a $>10 \text{ ug.mL}^{-1}$, respectivamente.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo foi possível analisar o panorama geral do comportamento de isolados de *A. grandis* na região sul do Brasil em relação a sensibilidade aos fungicidas ciprodinil, pirimetanil, iprodiona e procimidona. Até o momento, não havia estudos a respeito da sensibilidade de isolados nesta região. Foi possível observar que os isolados possuem uma tendência a apresentarem sensibilidade reduzida aos fungicidas estudados, o que é preocupante para o futuro do manejo da cultura da batata.

São necessários estudos futuros quanto a eficiência dos fungicidas *in vivo* contrastando isolado com menores e maiores valores de CE_{50} de cada fungicida para avaliar a resistência prática.

Para complementar este estudo, é necessário conduzir novas pesquisas de sensibilidade utilizando diferentes ingredientes ativos, com o objetivo de contribuir para o manejo da pinta preta da batata na região sul do Brasil. Isso inclui a implementação de rotação de ingredientes ativos e modos de ação, a fim de evitar a redução da sensibilidade a outros grupos químicos de fungicidas. Sugere-se complementação das bulas comerciais dos produtos utilizados atualmente, uma vez que, em nenhum dos produtos testados nesse estudo foi citado as demais espécies causadoras da pinta preta e todas as recomendações se referem somente à *A. solani*, porém, foi comprovado que em um grande polo de produção de batata no Brasil o agente causal é a *A. grandis*.

REFERÊNCIAS

AGROFIT, SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIO (AGROFIT).

Consulta de produtos formulados. Disponível em:

<https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 02/01/2024.

ALBERONI, G.; CAVALLINI, D.; COLLINA, M.; BRUNELLI A. Characterisation of the first *Stemphylium vesicarium* isolates resistant to strobilurins in Italian pear orchards. **Eur J Plant Pathol** 126, 453–457, 2010.

ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em Fitopatologia**. 2ºed. Viçosa: Editora UFV, p.516, 2016.

AMIRI, A; HEATH, S.M.; PERES, N.A. Phenotypic characterization of multifungicide resistance in *Botrytis cinerea* isolates from strawberry fields in Florida. **Plant Disease** 97, p.393–401, 2013

ARDESTANI, S.T.; SHARIFNABI, B.; ZARE, R.; MOGHADAM, A.A. New *Alternaria* species associated with potato leaf spot in various potato growing regions of Iran. **Iranian Journal of Plant Pathology**, Tehran, v.45, p.83-86, 2010.

AVENOT, H.; SIMONEAU, P.; IACOMI-VASILESCU, B.; BATAILLE-SIMONEAU, N., characterization of mutations in the two-component histidine kinase gene *abn1* from *Alternaria brassicicola* that confer high dicarboximide and phenylpyrrole resistance. **Current genetics**. 47, 234E243. 2005.

AYAD, D.; ARIBI, D.; HAMON, B.; KEDAD, A.; SIMONEAU, P.; BOUZNAD, Z. Distribution of large-spored *Alternaria* species associated with early blight of potato and tomato in Algeria. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v.58, n.1, p.139-149, 2019.

AYLOR, D.E.; FRY, W.E.; MAYTON, H.; ANDRADE-PIEDRA, J.L. Quantifying the rate of release and escape of *Phytophthora infestans* sporangia from a potato canopy. **Phytopathology**, v.91, p.1189-1196, 2001.

BESSADAT, N.; BERRUYER, R.; HAMON, B.; BATAILLE-SIMONEAU, N.; BENICHOU, S.; KIHAL, M.; HENNI, D. E.; SIMONEAU, P. *Alternaria* species associated with early blight epidemics on tomato and other Solanaceae crops in northwestern Algeria. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.148, n.1, p.181-197, 2017.

BEUKEMA, H.P.; VANDER ZAAG, D.E. **Potato improvement: some factors and facts**. Wageningen: International Agricultural Centre. 1979. 224p.

BROWER, S. A tale of two blights. **Acta Universitatis Agriculturae Sueciae**, Alnarp, n.3, 78p. 2021.

BUDDE-RODRIGUEZ S., PASCHE J.S., MALLIK I., GUDMESTAD N.C. Sensitivity of *Alternaria* spp. from potato to pyrimethanil, cyprodinil, and fludioxonil. **Crop Protection**, 152, art. no. 105855, 2022.

CARDOSO C.R. **Potato And Tomato Early Blight: Molecular Identification Of *Alternaria* Species, Host Range And Epidemics**. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa, tese de doutorado, 2014.

CHAPELAND, F.; FRITZ, R.; LANEN, C.; GREDET, M.; LEROUX, P. Inheritance and mechanisms of resistance to anilinopyrimidine fungicides in *Botrytis cinerea* (*Botryotinia fuckeliana*). **Pestic. Biochem. Physiol.** 64:85-100, 1999.

Chou, H.H.; Wu, W.S. Phylogenetic analysis of internal transcribed spacer regions of the genus *Alternaria*, and the significance of filament-beaked conidia. **Mycological Research** **106**: 164–169. 2002.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Boletim Hortigranjeiro**, Brasília, DF, v. 9, n. 3, mar. 2023a.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Boletim Hortigranjeiro**, Brasília, DF, v. 9, n. 8, mar. 2023b.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Boletim Hortigranjeiro**, Brasília, DF, v. 10, n. 1, jan. 2024.

CUI, W.; BEEVER, R. E.; PARKES, S. L.; TEMPLETON, M. D. Evolution of an Osmosensing Histidine Kinase in Field Strains of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) in Response to Dicarboximide Fungicide Usage. **Phytopathology**, v.94, Ed.10 P.1036-1150, 2004.

DIAS, J.A.C.; IMAUTI, M.T. Doenças da batateira (*Solanum tuberosum*). In: Kimati, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed). **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**, 4ed, São Paulo: Ceres, 2005, v.2, p.119-142.

DING, S.; HALTERMAN, D.A.; MEINHOLZ, K.; GEVENS, A.J. Distribution and stability of quinone outside inhibitor fungicide resistance in populations of potato pathogenic *Alternaria* spp. in Wisconsin. **Plant Disease**, Saint Paul, v.103, p.2033-2040, 2019.

DITA, M.A. BROMMONSCHENKEL, S.H.; MATSUOKA, K.; MIZUBUTI, E.S.G. Histopathological study of the *Alternaria solani* infection process in potato cultivars with different levels of early blight resistance. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.155, n.4-8, p.462-469, 2007.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, Columbus, v.19, p.11-15, 1987.

DRY, I.B.; YUAN, K.H.; HUTTON, D.G. Dicarboximide resistance in field isolates of *Alternaria alternata* is mediated by a mutation in a two-component histidine kinase gene. **Fungal Genetics And Biology**, v.41, p.102-108, 2004.

DUAN, Y.; GE, C.; LIU, S.; WANG, J.; ZHOU, M. A two-component histidine kinase Shk1 controls stress response, sclerotial formation and fungicide resistance in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Molecular Plant Pathology**. Sep;14(7):708-18. 2013.

DUARTE, H.S.S.; ZAMBOLIM, L.; CAPUCHO, A.S.; NOGUEIRA JÚNIOR, A.F.; ROSADO, A.W.C.; CARDOSO, C.R.; PAUL, P.A.; MIZUBUTI, E.S.G. Development and validation of a set of standart área diagrams to estimate severity of potato early blight. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.137, p. 249-257, 2013.

DUARTE, H.S.S.; ZAMBOLIM, L.; MACHADO, F.J.; PORTO, H.R.P.; RODRIGUEZ, F.A. Comparative epidemiology of late blight and early blight of potato under different environmental conditions and fungicide application programs. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.40, n.5, p.1805-1818, 2019.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema de Produção da Batata**. Versão Eletrônica, 2., 2015.

FAIRCHILD, K.L.; MILES, T.D.; WHARTON, P.S. Assessing fungicide resistance in populations of *Alternaria* in Idaho potato fields. **Crop Protection**, Guidford, v.49, p.31-39, 2013.

FAOSTAT. 2023. Food and Agriculture Organization of the United Nations. https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity. Acesso em: 20 Novembro 2023.

FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D.; CHEN, F.; SCHNABEL G. Resistance to Cyprodinil and Lack of Fludioxonil Resistance in Botrytis cinerea Isolates from Strawberry in North and South Carolina. **Plant Disease**. v.97, Ed.1, p. 4-157, 2013.

FRAILE, A.; ALONSO, A.; SAGASTA, E.M. Some characteristics of Botrytis cinérea isolates tolerant to procymidone. **Plant Pathology**, v.35, p.82-85, 1986.

FERNANDES, A.M.; SORATTO, R.P.; MORENO, L.A.; EVANGELISTA, R.M. Qualidade de tubérculos frescos de cultivares de batata em função da nutrição fosfatada. **Bragantia**, Campinas, v.74, n.1, p.102-109, 2015.

FIERS, M.; CHATOT.; EDEL-HERMANN, V.; HINGRAT, Y.L.; KONATE, A.Y.; GAUTHERON, N.; GUILLERY, E.; ALABOUVETTE, C.; STEINBERG, C. Diversity of microorganisms associated with atypical superficial blemishes of potato tubers and pathogenicity assessment. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.128, n.3, p.353-371, 2010.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3.ed, Viçosa: Editora UFV, p. 421, 2008.

FILLINGER, S.; AJOUZ, S.; NICOT, P.C.; LEROUX, P.; BARDIN, M. Functional and structural comparison of pyrrolnitrin and iprodione-induced modifications in the class III histidine-kinase Bos1 of *Botrytis cinerea*. *PLoS One* 7:e42520. 2012.

FONSEKA, D.L.; GUDMESTAD, N.C. Spatial and temporal sensitivity of *Alternaria* species associated with potato foliar diseases to demethylation inhibiting and anilino-pyrimidine fungicides. **Plant Disease**, Saint Paul, v.100, n.9, p.1848-1857, 2016.

FORTES, G.R.L.; PEREIRA, J.E.S. Batata-semente pré-básica: Cultura de Tecidos. In: PEREIRA, A. S.; DANIELS, J. (Eds.). **O cultivo da batata na região Sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 421-433, 2003.

Fungicide Resistance Action Committee. FRAC Code List. Fungicides sorted by mode of action (including FRAC code numbering). Publicação online. CropLife Int'l., Brussels, Belgica. 2015.

Fungicide Resistance Action Committee - FRAC, Disponível em: <https://www.frac-br.org/modo-de-acao> Acesso em: 25 dezembro 2023.

Fungicide Resistance Action Committee – FRAC. Relação de Códigos FRAC®* 2022: Agentes de controle fúngico classificados por padrão de resistência cruzada e modo de ação. Disponível em: <https://www.frac-br.org/documentos-tecnicos> Acesso em: 25 dezembro 2023.

Fungicide Resistance Action Committee – FRAC. Relação de risco de patógenos. 2019 Disponível em: <https://www.frac-br.org/documentos-tecnicos>. Acesso em: 05 dezembro 2023.

FUNGARO, M. H. P. PCR na micologia. **Biotecnologia - Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 3, n. 14, p. 12-16, 2000.

FUJIMURA, M.; OCHIAI, N.; ICHIISHI, A.; USAMI, R.; HORIKOSHI, K.; YAMAGUCHI, I. Fungicide Resistance and Osmotic Stress Sensitivity in os Mutants of *Neurospora crassa*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. v.67, Ed. 2, p.125-133, 2000.

GABAHARDT, C.; VALKONEN, J.P.T. Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome, **Annual Reviews Phytopathology**, Palo Alto, v.39, p.79-102, 2001.

GANIE, S.A.; GHANI, M.Y.; HUSSAIN, L.A.; AHANGAR, F.A. Perpetuation of *Alternaria solani* of Potato under Temperate Kashmir Valley Conditions. **Molecular Plant Breeding**, Columbia, v.7, n.5, p.1-8, 2016.

GANNIBAL, P.B.; ORINA, A.S.; MIRONENKO, N.V.; LEVITIN, M.M. Differentiation of the closely related species, *Alternaria solani* and *A. tomatophila*, by molecular and morphological features and aggressiveness. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.139, n.3, p.609-623, 2014.

GHINI, R., KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 2. ed. Jaguariuna-SP: Embrapa Meio Ambiente, 2002.

GISI, U.; MÜLLER, U.; HALL, S. **Fungicides Acting on Amino Acids and Protein Synthesis**. In: JESCHKE, P.; WITSCHKE, M.; KRÄMER, W.; SCHIRMER, U. (Eds.). *Anilinopyrimidines: Methionine Biosynthesis Inhibitors. Modern Crop Protection Compounds*. 3.ed. Berlin: Verlag, p.749-759, 2019.

GRABKE, A.; FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D.; LI, A. A. X.; PERES, N. A.; SMITH P.; SCHNABEL, G. Characterization of Iprodione Resistance in *Botrytis cinerea* from Strawberry and Blackberry. **Phytopathology**. v.104, Ed.4, p.324-432, 2014.

GRUM-GRZHIMAYLO et al., On the diversity of fungi from soda soils. **Fungal Diversity**, 10.1007/s13225-015-0320-2, 2015.

GUDMESTAD, N.C.; ARABIAT, S.; MILLER, J.S.; PASCHE, J.S. Prevalence and impact of SDHI fungicide resistance in *Alternaria solani*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.97, n.7, p.952-960, 2013.

HAUSLADEN, H.; LEIMINGER, J. Potato early blight in Germany (*Alternaria solani* - *Alternaria alternata*), PPO Special report no. 12, Westerdijk CEM Schepers HTAM, (eds) **Applied Plant Research BV**, Wageningen, 2007.

HERIVAUX, A.; SO, Y.S.; GASTEBOIS, A.; LATGE, J.P.; BOUCHARA, J.; BAHN, Y.; PAPON, N. Major sensing proteins in pathogenic fungi: the hybrid histidine kinase family. **PLoS Pathog**.12(7), 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005683>.

HILBER, U.W.; HILBER-BODMER, M. Genetic basis and monitoring of resistance of *Botryotinia fuckeliana* to anilinopyrimidines. **Plant Disease** 82:496–500, 1998.

HILBER, U. W., & SCHÜEPP, H. A Reliable Method for Testing the Sensitivity of *Botryotinia fuckeliana* to Anilinopyrimidines *In Vitro*. **Pesticide Science**, v. 47, n. 3, p. 241–247. 1996.

HONG, S.G.; CRAMER, R.A.; LAWRENCE, C.B.; PRYOR, B.M. Alt a 1 allergen homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure. **Fungal Genetics and Biology** 42: 119–129. 2005.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – Safra 2019**. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/batata/br> > Acesso em 13 novembro 2023.

KALYAANAMOORTHY S, MINH BQ, WONG, TK, VON HAESELER A, JERMIIN LS. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. **Nature methods**, 14(6), 587-589, 2017.

KANETIS, L.; FÖRSTER, H.; JONES, C. A.; BORKOVICH, K. A.; ADASKAVEG, J. E. Characterization of genetic and biochemical mechanisms of fludioxonil and pyrimethanil resistance in field isolates of *Penicillium digitatum*. **Phytopathology**

98:205-214, 2008.

KATOH K, TOH H. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings in bioinformatics*, 9(4), 286-298. 2008.

KEMMITT, G.M. **Early Blight of Potato and Tomato**. The Plant Health Instructor, 2002.

KNAUF-BEITER, G.; DAHMEN, H.; HEYE, U.; STAUB, T. Activity of cyprodinil: optimal treatment timing and site of action. *Plant Disease*, v.79 n.11 p.1098-1103, 1995.

KIM, E.; LEE, H.M.; KIM, Y.H. Morphogenetic Alterations of *Alternaria alternata* Exposed to Dicarboximide Fungicide, Iprodione. **The Plant Pathology Journal**, London, v.33, n.1, p.95-100, 2017.

KOCH, M.; NAUMANN, M.; PAWELZIK, E.; GRANSEE, A.; THIEL, H. The importance of nutrient management for potato production part I: Plant nutrition and yield. **Potato Research**, Springer Netherlands, p.1-23, 2019.

KÖLLER, W.; WILCOX, W. F.; PARKER, D. M. Sensitivity of *Venturia inaequalis* Populations to Anilinopyrimidine Fungicides and Their Contribution to Scab Management in New York. **Plant Disease**. V.89, Ed.4, p.347-435, 2005.

KUANG, J.; HOU, Y.; WANG, J.; ZHOU, M. Sensitivity of *Sclerotinia sclerotiorum* to fludioxonil: In vitro determination of baseline sensitivity and resistance risk. **Crop Protection**. V. 30, ed. 7, p. 876-882, 2011.

KUMAR S.; STECHER G.; TAMURA K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution** 33:1870-1874, 2016.

LANDSCHOOT, S.; CARRETE, J.; VANDECASTEELE, M.; BEATS, B.D.; HOFTE, M.; AUDENAERT, K.; HAESAERT, G. Boscalid-resistance in *Alternaria alternata* and *Alternaria solani* populations: an emerging problem in Europe. **Crop Protection**, v.92, p.49-59, 2017b.

LANDSCHOOT, S.; VANDECASTEELE, M.; DE BAETS, B.; HÖFTE, M.; AUDENAERT, K.; HAESAERT, G. Identification of *A. arborescens*, *A. grandis*, and *A. protenta* as new members of the European *Alternaria* population on potato, **Fungal Biology**, v.121, p.172-188, 2017a. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.11.005>.

LATORRE, B. A., SPADARO, I., AND RIOJA, M. E. Occurrence of resistant strains of *Botrytis cinerea* to anilinopyrimidine fungicides in table grapes in Chile. **Crop Protection**, v. 21, p. 957-961. 2002.

LATORSE et al. Molecular analysis of *Alternaria* populations early blight causal agents in potato plants. **PPO-Special Report**, Arras, n. 14, p. 179-186, 2010.

LAWRENCE DP, GANNIBAL PB, PEEVER TL, PRYOR BM, The sections of *Alternaria*: Formalizing species-groups concepts. **Mycologia** 105, 530-546, 2013.

LEROUX, P.; CHAPELAND, F.; DESBROSSES, D.; GREDET, M. Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards. **Crop Protection**, 18 p.687–697, 1999.

LEROUX, P.; GREDET, M.; REMUSON, F.; MICOUD, A.; AND WALKER, A. S.; Fungicide resistance status in French populations of the wheat eyespot fungi *Oculimacula acuformis* and *Oculimacula yallundae*. **Pest Manag. Sci.** 69:15-26, 2013.

LI, J.; PHOOKAMSAK, R.; JIANG, H.; BHAT, D.J.; CAMPORESI, E.; LUMYONG, S.; KUMLA, J.; HONGSANAN, S.; MORTIMER, P.E.; XU, J.; SUWANNARACH, N. Additions to the Inventory of the Genus *Alternaria* Section *Alternaria* (Pleosporaceae, Pleosporales) in Italy. **Journal of Fungi**. 8(9):898. 2022. <https://doi.org/10.3390/jof8090898>

LOPES, C.A.; BUSO, J.A. **Cultivo da Batata (*Solanum tuberosum* L.)**. Brasília: EMBRAPA/CNPq, 35p. (Instruções técnicas, 8). 1977.

LOURENÇO JUNIOR, V.; et al. Molecular diversity and evolutionary processes of *Alternaria solani* in Brazil inferred using genealogical and coalescent approaches. **Phytopathology** 99, 765-774, 2009.

LUO, C. X.; SCHNABEL, G. The cytochrome P450 lanosterol 14 α -demethylase gene is a demethylation inhibitor fungicide resistance determinant in *Monilinia fructicola* field isolates from Georgia. **Applied and Environmental Microbiology**. 74:359-366. 2008.

LUO, Y.Y., YANG, J.K., ZHU, M.L. CHEN JIAN LIU, HAI YAN LI, ZE BAO LU, WEN ZHENG PAN, ZHONG HUA ZHANG, WEI BI & KE QIN ZHANG. The Group III Two-Component Histidine Kinase AIHK1 is Involved in Fungicides Resistance, Osmosensitivity, Spore Production and Impacts Negatively Pathogenicity in *Alternaria longipes* . *Current Microbiology*, 64, p.449–456, 2012.

MAIA, J.N., BEGER, G., BOLDRINI, I.B.; PERES, N. A.; MAY DE MIO, L. L.; DUARTE, H. S. S. Sensitivity of Brazilian *Botrytis cinerea* isolates from strawberry to pyrimethanil and its control efficacy. **Trop. plant pathol** 1983-2052, 2023.

MARIN-FELIX, Y.; HERNÁNDEZ-RESTREPO, M.; ITURRIETA-GONZÁLEZ, I.; GARCÍA, D., GENÉ, J.; GROENEWALD, J.Z.; CAI, L.; CHEN, Q.; QUAEDVLIEG, W.; SCHUMACHER, R.K.; TAYLOR, P.W.J. AMBERS, C.; BONTJON, G.; EDWARDS, J.; KRUEGER-HADFIELD, S.A.; LUANGSA-ARD, JJ.; MORTON, L.; MOSLEMI, A.; SANDOVAL-DENIS, M.; TAN, Y.P.; THANGAVEL, R.; VAGHEFI, N.; CHEEWANGKON, R.; CROUS, P.W. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3. **Stud Mycol.** Jun 13;94:1-124. 2019. doi: 10.1016/j.simyco.2019.05.001.

MILLER, T. K.; RENAULT, S.; SELITRENNIKOFF, C. P. Molecular Dissection of Alleles of the osmotic-1 Locus of *Neurospora crassa*, **Fungal Genetics and Biology**, v.35, Ed.2, p. 147-155, 2002.

MIZUBUTI, E.S.G. Requeima ou mela da batata e do tomate. LUZ, E.D.M.N.; SANTOS, A.F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA, J. L. **Doenças causadas por Phytophthora no Brasil**. Ed. Rural, Campinas-SP. P. 100-174, 2001.

MOTOYAMA T, KADOKURA K, OHIRA T, ICHIISHI A, FUJIMURA M, YAMAGUCHI I, KUDO T A two-component histidine kinase of the rice blast fungus is involved in osmotic stress response and fungicide action. **Fungal Genetics and Biology**, v. 42 p.200–212, 2005.

MOYANO, C.; GOMEZ, V.; MELGAREJO, P. Resistance to pyrimethanil and other fungicides in *Botrytis cinerea* populations collected on vegetable crops in Spain. **Journal of Phytopathology** 152:484–490, 2004.

MYRESIOTIS, C.K.; KARAOGLANIDIS, G.S.; TZAVELLA-KLONARI, K. Resistance of *Botrytis cinerea* isolates from vegetable crops to anilinopyrimidine, phenylpyrrole, hydroxyanilide, benzimidazole, and dicarboximide fungicides. **Plant Disease** 91:407–413, 2007.

NAUMANN, M.; KOCH, M.; THIEL, H.; GRANSEE, A.; PAWELZIK, E. The importance of nutrient management for potato production Part II: Plant nutrition and tuber quality. **Potato Research**, Springer Netherlands, 2019.

ODIBELKOV, F.; EDIN, E.; MOSTAFANEZHAD, H.; COOLMAN, H.; GRENVILLE-BRIGGS, L.J.; LILJEROTH, E. Within-season changes in *Alternaria solani* populations in potato in response to fungicide application strategies. **European Journal of Plant Pathology**. v.155, p.953-965, 2019.

OSHIMA, M.; FUJIMURA, M.; BANNO, S.; HASHIMOTO, C.; MOTOYAMA, T.; ICHIISHI, A.; YAMAGUCHI, I. A point mutation in the two-component histidine kinase BcOS1 gene confers dicarboximide resistance in field isolates of *Botrytis cinerea*. **Phytopathology** 92:75-80. 2002.

OZKILINC, H.; ROTONDO, F.; PRYOR, B.M.; PEEVER, T.L. Contrasting species boundaries between sections *Alternaria* and *Porri* of the genus *Alternaria*. **Plant Pathology** 67(2):303-314, 2018.

PARREIRA, D.F.; NEVES, W.S.; ZAMBOLIM, L. Resistência de fungos a fungicidas inibidores de quinona. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v.3, n.2, p.24-34, 2009.

PEIXOTO, C.C. **Caracterização molecular, morfológica e biológica do agente etiológico da pinta preta em solanáceas no Brasil**. 2015. 89p. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2015.

PEIXOTO, C.C.; CABRAL, C.S.; FONSECA, M.E.N.; BOITEUX, L.S.; REIS, A. Species diversity, novel interactions and absence of well-supported host-guided

phylogenetic groupings of Neotropical *Alternaria* isolates causing foliar lesions in Solanaceae, **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, p. 2466–2487, 2021.
<https://doi.org/10.1111/jam.15115>

PEREIRA, W.V.; PADILHA, A.C.N.; KAISER, J.A.O.; NESI, C.N.; FISCHER, J.M.M.; MAY-DE-MIO, L.L. *Monilinia* spp. from imported stone fruits may represent a risk to Brazilian fruit production. **Trop. Plant Pathol.** 44:120–131, 2019.
<https://doi.org/10.1007/s40858-018-0243-z>

PERES, N.A.R.; AGOSTINI, J.P.; TIMMER, L.W. Outbreaks of *Alternaria* brown spot of citrus in Brazil and Argentina. **Plant Disease**, v.87, p.750, 2003.

PRYOR, B.M.; GILBERTSON, R.L. “Molecular phylogenetic relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences.” **Fungal Biology** 104: 1312-1321, 2000.

PRYOR, B.M.; BIGELOW, D.M. Molecular characterization of *Embellisia* and *Nimbya* species and their relationship to *Alternaria*, *Ulocladium* and *Stemphylium*. *Mycologia*. Nov-Dec;95(6):1141-54, 2003. doi: 10.1080/15572536.2004.11833024.

RAMBAUT A. **FigTree**: tree figure drawing tool, version 1.4.4. 2018.
<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>

REIS, E.M., REIS, A.C.; CARMONA, M.A. **Manual de fungicidas**: guia para o controle químico racional de doenças de plantas. 8.ed, Passo Fundo: Editora Bertier, 264p, 2019.

RODRIGUES, T.T.M.S. **Produção in vitro de conídios infectivos de *Alternaria solani***. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 33p. 2005.

RODRIGUES, M.B.C.; ANDREOTE, F.D.; SPÓSITO, M.B.; AGUILLAR-VILDOSO, C.I.; ARAÚJO, W.L.; PIZZIRANI-KLEINER, A.A. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.3, p.323-327, 2007.

RODRIGUES, T.T.M.S.; MIZUBUTTI, E.S.G. Pinta preta: surge uma nova espécie. **Revista Batata Show**, Itapetininga, v.24, p. 14-16, 2009.

RODRIGUES, T.T.M.S.; BERBEE, M.L.; SIMMONS, E.G.; CARDOSO, C.R.; REIS, A.; MAFFIA, L.A.; MIZUBUTTI, E.S.G. First report of *Alternaria tomatophila* and *A. grandis* causing early blight on tomato and potato in Brazil. **New Disease Reports**, London, v.22, p.22-28, 2010.

ROMERO, P.I.A.; MACHADO, J.P.H.; MIZUNUTTI, E.S.G.; SANDOVAL, N.S.E. A pinta preta (*Alternaria grandis*) – a inimiga da bataticultura brasileira. **Revista Agrária Acadêmica**, Imperatriz, v.3, n.4, p.57-65, 2020.

RONQUIST F.; HUELSENBECK J.P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, 19(12), 1572-1574. 2003.

ROTEM, J. **The Genus *Alternaria***: Biology, Epidemiology and Pathogenicity. APS Press, Saint Paul, 1994.

SILVA, G.A.C. **Identificação molecular de *Alternaria* spp. na cultura da batata**. Dissertação (Mestrado). Instituto Biológico. São Paulo. p.68, 2020.

SILVA, G.O.; LOPES, C.A. **Sistema de Produção da Batata**. In: Sistema de Produção Embrapa. 2015. Disponível em: 213
https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet Acesso em: 01 dezembro 2023.

SIMMONS, E.G. *Alternaria* themes and variation (244-286). Species on Solanaceae. **Mycotaxon**, v.75, n.1, p.1-115, 2000.

SIMMONS E.G. ***Alternaria***: an identification manual. Utrecht: CBS Biodiversity Series, p.775, 2007.

SIMMONS, E. G.; ROBERTS, R. G. *Alternaria* themes and variations (73). **Mycotaxon** v. 48 p. 109-140, 1993.

STEEL, C.C.; NAIR, N.G. Oxidative protective mechanisms and resistance to the dicarboximide fungicide, iprodione, in *Alternaria alternata*. **Journal of Phytopathology**. Berlim, v.143, p.531-535, 1995.

SUN, H.Y.; WANG, H.C.; CHEN, Y.; LI, H.X.; CHEN, C.J.; ZHOU, M.G. Multiple resistance of *Botrytis cinerea* from vegetable crops to carbendazim, diethofencarb, procymidone, and pyrimethanil in China. **Plant Disease** 94:551–556, 2010.

TAHERI, A. S.; SHARIF, N. B.; ZARE, R.; ABBASI, M. A. *Alternaria interrupta*, a new pathogen causing potato early blight in Iran. **Rostaniha**, Teheran, v.10, p.72-73, 2009.

TÖFOLI, J.G. **Ação de fungicidas e indutores de resistência no controle da requeima e pinta preta na cultura da batata**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2011.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J. **SINTOMATOLOGIA, ETIOLOGIA E MANEJO DE DOENÇAS CAUSADAS POR FUNGOS E CHROMISTAS NA CULTURA DA BATATA**. Divulgação Científica. **O Biológico**, v.84, 2022.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J.; ZANOTTA, S. **Doenças fúngicas da batata**. In: SALAS, F.J.S.; TÖFOLI J.G. (Eds.). Cultura da batata: pragas e doenças. 1. ed. Instituto Biológico: São Paulo, p. 222, 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. **O Biológico**, São Paulo, v.75, n.1, p.33-40, 2013.

TÖFOLI, J.G.; MELO, P.C.T.D.; DOMINGUES, R.J.; FERRARI, J.T. Controle da requeima e pinta preta da batata por fungicidas e seu reflexo sobre a produtividade e a qualidade de tubérculos. **Arquivos do Instituto Biológico**, Campinas, v.83, p.1-12, 2016.

TYMON, L.; JOHNSON, D.A. Fungicide Resistance of Two Species of *Alternaria* from Potato in the Columbia Basin of Washington. **Plant Disease**, Saint Paul, v.98, n.12, p.1648-1653, 2014.

VAN DER WAALS, J.E.; KORSTEN, L.; AVELING, T.A.S.; DENNER, F.D.N. Influence of environmental factors on field concentrations of *Alternaria solani* conidia above a South African potato crop. **Phytoparasitica**, Bet Degan, v.31, n.4, p.353-364, 2003.

VITALE, A.; PANEBIANCO, A.; POLIZZI, G. Baseline sensitivity and efficacy of fluopyram against *Botrytis cinerea* from table grape in Italy. **Annals of Applied Biology**, v. 169(1), p. 36-45. 2016.

WANG, B.; LOU, T.; WEI, L.; CHEN, W.; HUANG, L.; DING, L.; ZHAO, W.; ZHANG, P.; SUN, P.; CHEN, C.; WANG, K. Biochemical, and molecular characterization of *Alternaria alternata* isolates highly resistant to procymidone from broccoli and cabbage, **Phytopathology Research**, v.3, n.15, p.3-15, 2021.

WHARTON, P.; WOOD, E. **Early blight biology and control in potatoes**. University of Idaho Extension, v.1196, p.1-5, 2013.

WOLTERS, P.J.; VOS, L.; BIJSTERBOSCH, G.; WOUDEMBERG, J.H.C.; VISSER, R.G. F.; LINDEN, G.V.D.; VLEESHOUWERS, V.G.A.A. A rapid method to screen wild Solanum for resistance to early blight. **European Journal of Plant Pathology**, v.154, n.1, p.109-114, 2019.

WOUDEMBERG, J.H.C.; GROENEWALD, J.Z.; BINDER, M.; CROUS, P.W. *Alternaria* redefined. **Studies In Mycology**, Utrecht, v.75, p.171-212, 2013.

WOUDEMBERG, J. TRUTER, M.; GROENEWALD, J.Z.; CROUS, P.W. Large-spored *Alternaria* pathogens in section *Porri* disentagled. **Studies in Mycology**. Volume 79, pages 1-4, 2014.

WOUDEMBERG, J. H. C.; SEIDL, M. F.; GROENEWALD, J. Z.; DE VRIES, M.; STIELOW, J. B.; THOMMA, B. P. H. J.; CROUS, P. W. *Alternata* section, *Alternaria*: species, formae speciales or pathotypes? **Studies in Mycology**. 82: 1-21, 2015.

XIAO, C. L.; KIM, Y. K.; BOAL, R. J. First Report of Occurrence of Pyrimethanil Resistance in *Penicillium expansum* from Stored Apples in Washington State. **Plant Disease**. V.95, n.1, p. 72-72, 2011.

YANG, L.N.; HE, M.H.; OUYANG, H.B.; ZHU, W.; PAN, Z.C.; SUI, Q.J.; SHANG, L.P.; ZHAN, J. Cross-resistance of the pathogenic fungus *Alternaria alternata* to fungicides with different modes of action. **BMC Microbiology**, v.19, 10p., 2019.

YOSHIMI, A.; IMANISHI, J.; GAFUR, A.; TANAKA, C.; MITSUYA TSUDA. Characterization and genetic analysis of laboratory mutants of *Cochliobolus heterostrophus* resistant to dicarboximide and phenylpyrrole fungicides. *Journal of General Plant Pathology* 69, 101–108, 2003.

YOSHIMI, A.; TSUDA, M.; TANAKA, C. Cloning and characterization of the histidine kinase gene *Dic1* from *Cochliobolus heterostrophus* that confers dicarboximide resistance and osmotic adaptation. *Molecular Genetics and Genomics*. 271, p.228–236, 2004.

ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, S.V.; OLIVEIRA, S.H.F. **Manejo da Resistência de Fungos a Fungicidas**. Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora, 2007, 168p.

ZAMBOLIM, L. **Produção integrada de batata**. v.1, Viçosa: Editora UFV, 2011, 438p.

ZANOTTA, S. **Caracterização da população de *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary em regiões produtoras de batata (*Solanum tuberosum* L.) no Brasil**. 2019.124f. Tese (Doutorado). Instituto Biológico, São Paulo, SP, 2019.

ZHANG, D., F. GAO, I. JAKOVLIĆ, H. ZOU, J. ZHANG, W.X. LI, AND G.T. WANG, PhyloSuite: An integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies. *Molecular Ecology Resources*, 20(1): p. 348–355. 2020. DOI: 10.1111/1755-0998.13096.

ZHAO, H.; KIM, Y.K.; HUANG, L.; XIAO, C.L. Resistance to thiabendazole and baseline sensitivity to fludioxonil and pyrimethanil in *Botrytis cinerea* populations from apple and pear in Washington State. *Postharvest Biology and Technology*. v.56, Ed. 1, p. 12-18, 2010.

ANEXO 1

TABELA 1. ISOLADOS DE *A. grandis* COLETADOS EM CAMPOS DE BATATA NA REGIÃO SUL DO BRASIL

Código LEMID	Cidade	Estado	Coordenada	Cultivar
LEMIDStAgPR22-01	Contenda	PR	25°44'59.9"S 49°30'22.8"W	Atlantic
LEMIDStAgSC22-02	Água Doce	SC	26°37'26.4"S 51°45'38.2"W	Ágata
LEMIDStAgPR22-03	Contenda	PR	25°44'59.9"S 49°30'22.8"W	Atlantic
LEMIDStAgPR22-04	Contenda	PR	25°44'59.9"S 49°30'22.8"W	Atlantic
LEMIDStAgPR22-05	Piraí do Sul	PR	24°23'46.2"S 50°03'13.3"W	FL2312
LEMIDStAgPR22-06	Piraí do Sul	PR	24°23'37.3"S 50°03'30.1"W	FL1867
LEMIDStAgPR22-07	Piraí do Sul	PR	24°23'37.3"S 50°03'30.1"W	FL1867
LEMIDStAgSC22-08	Bela Vista do Toldo	SC	26°19'10.0"S 50°40'28.4"W	Ágata
LEMIDStAgSC22-09	Bela Vista do Toldo	SC	26°19'10.0"S 50°40'28.4"W	Camila
LEMIDStAgSC22-10	Bela Vista do Toldo	SC	26°19'10.0"S 50°40'28.4"W	Orchestra
LEMIDStAgSC22-11	Bela Vista do Toldo	SC	26°19'10.0"S 50°40'28.4"W	Orchestra
LEMIDStAgSC22-12	Canoinhas	SC	26°12'14.1"S 50°22'12.6"W	Embrapa melhoramento
LEMIDStAgSC22-13	Canoinhas	SC	26°12'14.1"S 50°22'12.6"W	Embrapa melhoramento
LEMIDStAgSC22-14	Papanduva	SC	26°21'24.1"S 50°06'08.2"W	Camila
LEMIDStAgSC22-15	Papanduva	SC	26°21'24.1"S 50°06'08.2"W	Camila
LEMIDStAgPR22-16	Castro	PR	24°39'33.5"S 49°55'26.5"W	Atlantic
LEMIDStAgPR22-17	Castro	PR	24°39'33.5"S 49°55'26.5"W	Atlantic
LEMIDStAgPR22-18	Palmeira	PR	25°22'13.3"S 49°51'29.6"W	Ágata
LEMIDStAgPR22-19	Castro	PR	25°16'02.1"S 49°51'06.1"W	Atlantic
LEMIDStAgPR22-20	Castro	PR	25°16'02.1"S 49°51'06.1"W	Atlantic
LEMIDStAgRS23-21	Bom Jesus	RS	28°35'14.2"S 50°29'47.4"W	Ágata
LEMIDStAgRS23-22	Bom Jesus	RS	28°35'14.2"S 50°29'47.4"W	Ágata
LEMIDStAgRS23-23	Cambará do Sul	RS	29°14'48.8"S 50°17'19.9"W	Ágata
LEMIDStAgRS23-24	Cambará do Sul	RS	29°14'48.8"S 50°17'19.9"W	Ágata
LEMIDStAgRS23-25	Cambará do Sul	RS	29°16'28.5"S 50°16'49.5"W	Ágata
LEMIDStAgRS23-26	Cambará do Sul	RS	29°16'28.5"S 50°16'49.5"W	Ágata
LEMIDStAgRS23-27	Bom Jesus	RS	28°34'58.3"S 50°29'43.6"W	Ágata
LEMIDStAgRS23-28	Bom Jesus	RS	28°34'58.3"S 50°29'43.6"W	Ágata
LEMIDStAgRS23-29	Bom Jesus	RS	28°35'14.2"S 50°29'47.4"W	Ágata
LEMIDStAgRS23-30	Bom Jesus	RS	28°35'14.2"S 50°29'47.4"W	Ágata
LEMIDStAgSC23-31	Água Doce	SC	26°38'10.3"S 51°44'09.0"W	Ágata
LEMIDStAgSC23-32	Água Doce	SC	26°38'10.3"S 51°44'09.0"W	Ágata
LEMIDStAgSC23-33	Água Doce	SC	26°36'09.9"S 51°43'43.3"W	Ágata
LEMIDStAgPR23-34	Reseva do Iguaçu	PR	25°45'54.6"S 51°52'49.2"W	-
LEMIDStAgPR23-35	Reseva do Iguaçu	PR	25°45'54.6"S 51°52'49.2"W	-
LEMIDStAgPR23-36	Palmeira	PR	25°23'29.5"S 49°49'31.3"W	Ágata
LEMIDStAgPR23-37	Palmeira	PR	25°23'29.5"S 49°49'31.3"W	Ágata
LEMIDStAgPR23-38	Palmeira	PR	25°24'58.8"S 50°03'27.0"W	Ágata
LEMIDStAgPR23-39	Palmeira	PR	25°24'58.8"S 50°03'27.0"W	Ágata

LEMIDStAgSC23-40	Água Doce	SC	26°37'22.2"S 51°39'43.3"W	Ágata
LEMIDStAgSC23-41	Água Doce	SC	26°37'22.2"S 51°39'43.3"W	Ágata
LEMIDStAgPR23-42	Araucária	PR	25°40'03.8"S 49°27'01.6"W	Ágata
LEMIDStAgPR23-43	Araucaria	PR	25°38'07.3"S 49°28'00.8"W	Markies
LEMIDStAgPR23-44	Araucaria	PR	25°38'07.3"S 49°28'00.8"W	Markies

FONTE: O autor (2024)

ANEXO 2

TABELA 2. GENES COM SEUS RESPECTIVOS PRIMERS E CONDIÇÕES DE AMPLIFICAÇÃO DA PCR UTILIZADOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE *Alternaria* spp.

	PRIMER F	PRIMER R	CONDIÇÕES DE AMPLIFICAÇÃO DE PCR				
	5'-3'	5'-3'	D.1 ¹	D ²	A ³	E ⁴	E.F ⁵
<i>tef-1α</i>	EF1-728F	EF1-986R	94° C	94° C	59° C	2° C	72° C
	CATCGAGAAGTTCGAGAAGG	TACTTGAAGGAACCCCTTACC	5min	30seg	30seg	45seg	7min
<i>gapdh</i>	(Carbone e Kohn 1999)	(Carbone e Kohn 1999)	40 ciclos				
	GPD1	GPD2	94° C	94° C	63° C	72° C	72° C
	CAACGGCTTCGGTCGCATTG	GCCAAGCAGTTGGTTGTGC	5min	30seg	60seg	20seg	3min
	(Berbee et al., 1999)	(Berbee et al., 1999)	35 ciclos				
							Peixoto et al., (2021)

FONTE: O autor (2024)

NOTA: ¹Desnaturação Inicial; ²Desnaturação; ³Anelamento; ⁴Extensão; ⁵Extensão Final.

ANEXO 3

TABELA 3. ISOLADOS DE *Alternaria* spp., SEÇÃO PORRI, E NÚMEROS DE ACESSO NO GENBANK, UTILIZADOS NA ANÁLISE FILOGENÉTICA.

NOME DA ESPÉCIE	NÚMERO DE ACESSO	HOSPEDEIRO	NÚMERO DE ACESSO NO	
			GenBank	
<i>Alternaria acalyphicola</i>	CBS 541.94 ^T	<i>Acalypha indica</i>	<i>tef-1α</i>	<i>gapdh</i>
<i>Alternaria agerati</i>	CBS 117221 ^R	<i>Ageratum houstonianum</i>	KJ718446	KJ717952
<i>Alternaria agripestis</i>	CBS 577.94 ^T	<i>Euphorbia esula</i>	KJ718447	KJ717953
<i>Alternaria allii</i>	CBS 107.28 ^T	<i>Allium cepa</i>	KJ718448	JQ646356
<i>Alternaria alternariacida</i>	CBS 105.51 ^T	<i>Solanum lycopersicum</i>	KJ718449	KJ717954
<i>Alternaria anagallidis</i>	CBS 117128 ^R	<i>Anagallis arvensis</i>	KJ718454	KJ717959
<i>Alternaria anodae</i>	PPR112376	<i>Anoda cristata</i>	KJ718456	KJ717961
<i>Alternaria aragakii</i>	CBS 594.93 ^T	<i>Passiflora edulis</i>	KJ718458	KJ717963
<i>Alternaria argyroxiphii</i>	CBS 117222 ^T	<i>Argyroxiphium</i> sp.	KJ718459	KJ717964
<i>Alternaria azadirachtae</i>	CBS 116444 ^T	<i>Azadirachta indica</i>	KJ718460	JQ646350
<i>Alternaria bataticola</i>	CBS 531.63 ^T	<i>Ipomoea batatas</i>	KJ718463	KJ717967
<i>Alternaria blumeae</i>	CBS 117364 ^T	<i>Blumea aurita</i>	KJ718465	JQ646349
<i>Alternaria calendulae</i>	CBS 224.76 ^T	<i>Calendula officinalis</i>	KJ718474	AY562405
<i>Alternaria carthami</i>	CBS 117091 ^R	<i>Carthamus tinctorius</i>	KJ718475	KJ717977
<i>Alternaria carthamicola</i>	CBS 117092 ^T	<i>Carthamus tinctorius</i>	KJ718481	KJ717983
<i>Alternaria cassiae</i>	CBS 478.81 ^R	<i>Senna obtusifolia</i>	KJ718482	KJ717984
<i>Alternaria catananches</i>	CBS 137456 ^T	<i>Catananche caerulea</i>	KJ718485	KJ717987
<i>Alternaria centaureae</i>	CBS 116446 ^T	<i>Centaurea solstitialis</i>	KJ718487	KJ717989
<i>Alternaria cichorii</i>	CBS 102.33 ^T	<i>Cichorium intybus</i>	KJ718488	KJ717990
<i>Alternaria cirsinoxia</i>	CBS 113261 ^T	<i>Cirsium arvense</i>	KJ718489	KJ717991
			KJ718491	KJ717993

<i>Alternaria citrullicola</i>	CBS 103.32 ^T	<i>Citrullus vulgaris</i>	KJ718492	KJ717994
<i>Alternaria conidiophora</i>	CBS 137457 ^T	–	KJ718493	KJ717995
<i>Alternaria crassa</i>	CBS 110.38 ^T	<i>Datura stramonium</i>	KJ718495	KJ717997
<i>Alternaria cucumerina</i>	CBS 117225 ^R	<i>Cucumis melo</i>	KJ718502	KJ718001
<i>Alternaria cyamopsidis</i>	CBS 364.67 ^R	<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>	KJ718504	KJ718003
<i>Alternaria dauci</i>	CBS 111.38 ^T	<i>Daucus carota</i>	KJ718506	KJ718005
<i>Alternaria deserticola</i>	CBS 110799 ^T	<i>Solo do deserto</i>	KJ718595	KJ718077
<i>Alternaria dichondrae</i>	CBS 199.74 ^T	<i>Dichondra repens</i>	KJ718514	JQ646357
<i>Alternaria echinaceae</i>	CBS 116117 ^T	<i>Echinacea</i> sp.	KJ718518	KJ718015
<i>Alternaria grandis</i>	CBS 109158 ^T	<i>Solanum tuberosum</i>	EU130547	JQ646341
<i>Alternaria grandis</i>	CBS 116695 ^R	<i>Solanum tuberosum</i>	KJ718587	KJ718070
<i>Alternaria gypsophilae</i>	CBS 107.41 ^T	<i>Gypsophila elegans</i>	KC584660	KC584118
<i>Alternaria ipomoeae</i>	CBS 219.79 ^T	<i>Ipomoea batatas</i>	KJ718523	KJ718020
<i>Alternaria jesenskae</i>	CBS 133855 ^T	<i>Fumana procumbens</i>	KJ718525	KJ718022
<i>Alternaria linariae</i>	CBS 105.41 ^T	<i>Linaria maroccana</i>	KJ718528	KJ718024
<i>Alternaria macrospora</i>	CBS 117228 ^T	<i>Gossypium barbadense</i>	KC584668	KC584124
<i>Alternaria montanica</i>	CBS 121343 ^T	<i>Cirsium arvense</i>	KJ718541	KJ718033
<i>Alternaria multirostrata</i>	CBS 712.68 ^T	<i>Richardia scabra</i>	EU130546	JQ646362
<i>Alternaria neoipomoeae</i>	PPRI 11845 ^T	<i>Ipomoea batatas</i>	KJ718544	KJ718036
<i>Alternaria nitrimali</i>	CBS 109163 ^T	<i>Solanum viarum</i>	KJ718547	JQ646358
<i>Alternaria novae-guineensis</i>	CBS 116120 ^T	<i>Citrus</i> sp.	KJ718548	KJ718039
<i>Alternaria obtecta</i>	CBS 117367 ^R	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	KJ718550	KJ718041
<i>Alternaria paralinicola</i>	CBS 116652 ^T	<i>Linum usitatissimum</i>	KJ718552	KJ718043
<i>Alternaria passiflorae</i>	CBS 629.93 ^R	<i>Passiflora edulis</i>	KJ718555	KJ718045
<i>Alternaria pipionipisi</i>	CBS 116115 ^T	<i>Cajanus cajan</i>	KJ718560	KJ718049

<i>Alternaria porri</i>	CBS 116699 ^T	<i>Allium cepa</i>	KJ718564	KJ718053
<i>Alternaria protenta</i>	CBS 116696 ^R	<i>Helianthus annuus</i>	KJ718567	JQ646335
<i>Alternaria pseudorostrata</i>	CBS 119411 ^T	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	KC584680	A Y562406
<i>Alternaria ranunculi</i>	CBS 116330 ^T	<i>Ranunculus asiaticus</i>	KJ718571	KJ718058
<i>Alternaria ricini</i>	CBS 215.31 ^T	<i>Ricinus communis</i>	KJ718572	KJ718059
<i>Alternaria rostellata</i>	CBS 117366 ^T	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	KJ718575	JQ646332
<i>Alternaria scorzonerae</i>	CBS 478.83 ^T	<i>Scorzonera hispanica</i>	KJ718538	JQ646334
<i>Alternaria sennae</i>	CBS 477.81 ^T	<i>Senna corymbosa</i>	EU130543	JQ646344
<i>Alternaria sesami</i>	CBS 115264 ^R	<i>Sesamum indicum</i>	KJ718577	KJ718061
<i>Alternaria sidae</i>	CBS 117730 ^T	<i>Sida fallax</i>	KJ718578	KJ718062
<i>Alternaria silybi</i>	CBS 134092 ^T	<i>Silybum marianum</i>	KJ718579	KJ718063
<i>Alternaria solani</i>	CBS 111.44 ^T	<i>Ageratum houstonianum</i>	KJ718584	KJ718068
<i>Alternaria solani</i>	CBS 109157 ^R	<i>Solanum tuberosum</i>	KJ718585	GQ180080
<i>Alternaria solani-nigri</i>	CBS 116442 ^(T)	<i>Vicia faba</i>	KJ718586	KJ718069
<i>Alternaria solani-nigri</i>	CBS 113403 ^R	<i>Solanum nigrum</i>	KJ718589	KJ718071
<i>Alternaria steviae</i>	CBS 117362 ^T	<i>Stevia rebaudiana</i>	KJ718598	KJ718079
<i>Alternaria tagetica</i>	CBS 479.81 ^R	<i>Tagetes erecta.</i>	KC584692	KC584143
<i>Alternaria thunbergiae</i>	CBS 116331 ^T	<i>Thunbergia alata</i>	KJ718603	KJ718084
<i>Alternaria tillandsiae</i>	CBS 116116 ^T	<i>Tillandsia usneoides</i>	KJ718606	KJ718087
<i>Alternaria tropica</i>	CBS 631.93 ^T	<i>Passiflora edulis</i>	KJ718607	KJ718088
<i>Alternaria venezuelensis</i>	CBS 116121 ^T	<i>Phaseolus vulgaris</i>	KJ718609	KJ718090
<i>Alternaria zinniae</i>	CBS 117223 ^R	<i>Zinnia elegans</i>	KJ718616	KJ718096

FONTE: O autor (2024)

NOTA: CBS = Coleção de cultura do Central bureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Holanda. PPRI: ARC-Instituto de Pesquisa para Proteção de Plantas, Roodeplaat, África do Sul. T = isolado tipo (ex-type). R = isolado representativo. As letras entre parênteses referem-se a nomes de espécies sinonimizados.

ANEXO 4

TABELA 4: DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO EFETIVA ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) DOS FUNGICIDAS CIPRODINIL, PIRIMETANIL, IPRODIONA E PROCIMIDONA PARA INIBIR 50% (CE_{50}) DO CRESCIMENTO DE ISOLADOS DE *A. grandis*.

Isolado	CE_{50}			
	Ciprodinil	Pirimetanil	Iprodiona	Procimidona
LEMIDStAgPR22-01	0,04	1,07	1,27	1,27
LEMIDStAgSC22-02	0,08	2,55	5,91	2,41
LEMIDStAgPR22-03	0,12	0,90	3,66	2,03
LEMIDStAgPR22-04	0,08	5,82	6,07	2,39
LEMIDStAgPR22-05	>100	>100	2,48	1,66
LEMIDStAgPR22-06	0,17	11,77	1,84	3,74
LEMIDStAgPR22-07	0,07	4,47	2,04	2,12
LEMIDStAgSC22-08	0,18	45,04	1,82	2,27
LEMIDStAgSC22-09	>100	>100	3,73	2,41
LEMIDStAgSC22-10	>100	>100	2,95	2,18
LEMIDStAgSC22-11	>100	>100	0,09	2,02
LEMIDStAgSC22-12	0,08	6,36	2,73	2,44
LEMIDStAgSC22-13	0,12	4,28	1,31	2,41
LEMIDStAgSC22-14	0,08	4,10	5,68	2,44
LEMIDStAgSC22-15	0,08	5,74	2,37	2,32
LEMIDStAgPR22-16	0,15	8,48	5,94	>100
LEMIDStAgPR22-17	0,12	43,61	5,97	>100
LEMIDStAgPR22-18	>100	>100	1,50	2,49
LEMIDStAgPR22-19	0,07	5,24	2,55	2,41
LEMIDStAgPR22-20	0,12	68,79	6,11	2,11
LEMIDStAgRS23-21	0,05	1,47	2,63	2,59
LEMIDStAgRS23-22	0,05	1,99	9,15	2,01
LEMIDStAgRS23-23	>100	>100	3,10	2,21
LEMIDStAgRS23-24	>100	>100	1,98	2,32
LEMIDStAgRS23-25	>100	>100	2,81	1,58
LEMIDStAgRS23-26	>100	>100	2,86	1,71
LEMIDStAgRS23-27	0,07	1,07	3,83	1,61
LEMIDStAgRS23-28	0,06	1,15	6,31	1,54
LEMIDStAgRS23-29	0,06	3,60	1,97	1,66
LEMIDStAgRS23-30	0,02	4,72	2,82	1,89
LEMIDStAgSC23-31	1,89	>100	2,90	1,58
LEMIDStAgSC23-32	>100	>100	3,78	1,75
LEMIDStAgSC23-33	>100	>100	1,91	1,66
LEMIDStAgPR23-34	>100	>100	2,61	1,69
LEMIDStAgPR23-35	>100	>100	1,83	1,92
LEMIDStAgPR23-36	>100	>100	3,97	1,33
LEMIDStAgPR23-37	>100	>100	2,94	1,33
LEMIDStAgPR23-38	14,32	>100	1,65	1,71
LEMIDStAgPR23-39	18,47	>100	3,06	1,75

LEMIDStAgSC23-40	>100	72,00	2,40	1,63
LEMIDStAgSC23-41	>100	65,51	2,20	2,81
LEMIDStAgPR23-42	>100	64,76	2,10	2,30
LEMIDStAgPR23-43	>100	68,92	2,06	2,34
LEMIDStAgPR23-44	32,22	55,09	2,68	1,54

FONTE: O autor (2024)