

293 - Sensibilidade *in vitro* de isolados de *Phytophthora infestans* aos fungicidas ciazofamida, clorotalonil, dimetomorfe e propamocarbe

Samantha Zanotta^{1*}, Eliana Borges Rivas¹, Larissa de Brito Caixeta¹, Jesus Guerino Tofoli¹, Ana Maria Florencia Lucca², Ricardo Harakava¹

¹IB – instituto Biológico, Centro de P & D em Sanidade Vegetal, Laboratório de Diagnóstico Fitopatológico

²INTA - National Institute of Agricultural Technology (INTA)

INTRODUÇÃO

A requeima, causada por *Phytophthora infestans*, é uma das doenças mais destrutivas na bataticultura mundial, podendo comprometer toda a produção em poucos dias (Fig. 1).



FIGURA 1- Requeima em batata. A) sintoma na face adaxial da folha; B) esporulação do patógeno na face abaxial da folha; C) sintoma em área de produção.

Devido à importância da requeima para a cultura, diferentes métodos de controle têm sido integrados, como o uso de batatas-sementes sadias/certificadas e cultivares com algum nível de resistência, eliminação da fonte de inóculo potencial e aplicação de fungicidas agrícolas.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade de isolados de *P. infestans* a quatro fungicidas com diferentes mecanismos de ação, pelo método de microtitulação colorimétrica.

METODOLOGIA

MATERIAL

- 15 isolados de *P. infestans* (Tab. 1);
- 4 princípios ativos: ciazofamida, clorotalonil, dimetomorfe, propamocarbe.

TABELA 1 - Isolados de *Phytophthora infestans* selecionados para o experimento de sensibilidade a fungicidas

Nº	Cidade / Estado	Variedade
151	Santa Maria do Herval – RS	Batata
PRT	-	Batata
012C	Campo do Tenente – PR	Batata / Atlantic
023	Santa Juliana – MG	Batata / Markies
035B	Serra do Salitre – MG	Batata / Atlantic
042	Vargem Grande do Sul – SP	Batata / Ioná
051	Boa Vista – RR	Tomate / -
061	Ponta Grossa – PR	Batata / -
064	Tapira – MG	Batata / Atlantic
077	Vargem Grande do Sul - SP	Batata / FL 1867
093	Ponta Grossa – PR	Batata / -
109	Ponta Grossa – PR	Batata / Agata
117	Lapa – PR	Batata / Atlanntic
136	Itapetininga – SP	Batata / Romeo
140	Leme – SP	Batata / -

MÉTODOS

- concentrações dos fungicidas: 0; 0,01; 0,03; 0,1; 0,3; 1; 3 e 10 µg.mL⁻¹ (Fig. 2);
- inóculo: suspensão a 10⁴ esporângios/mL;
- microtitulação em microplaca de poliestireno de 96 poços (Fig. 3).

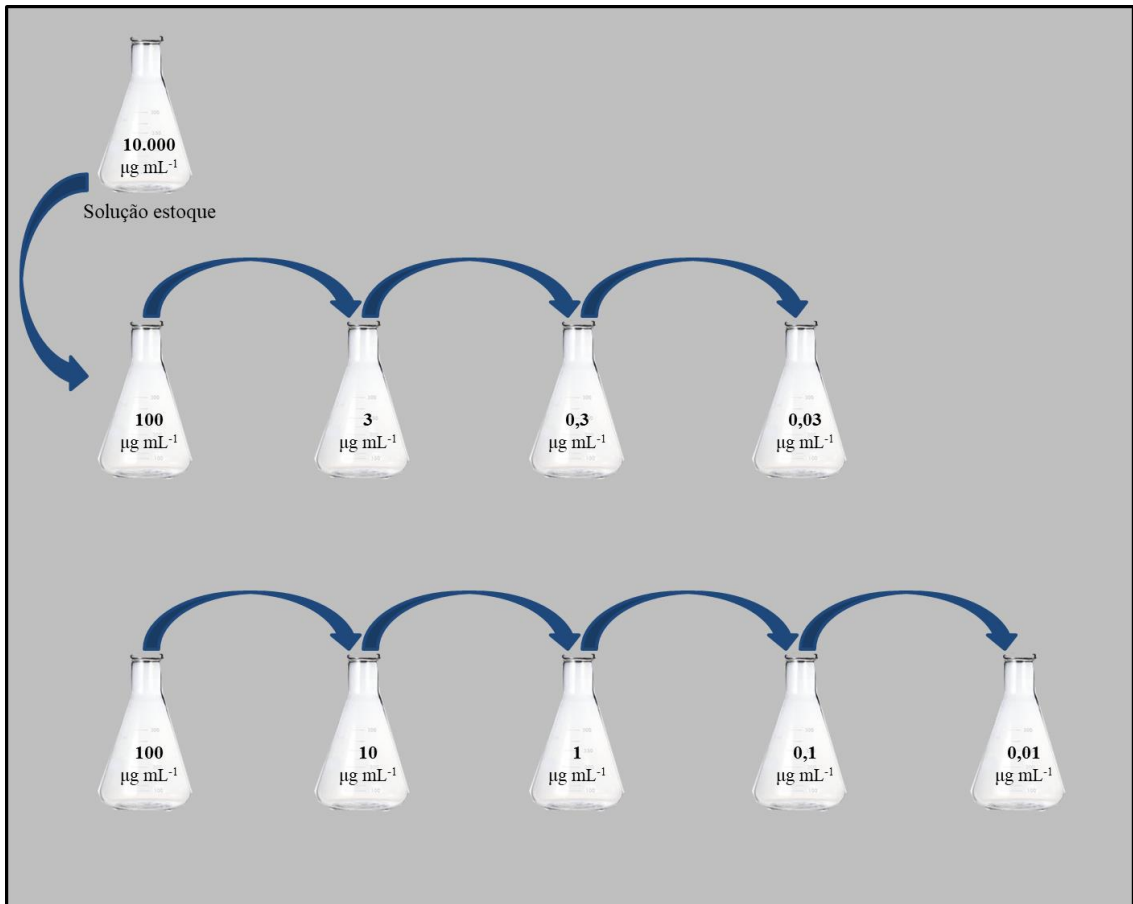


FIGURA 2 - Esquema da diluição seriada dos princípios ativos.

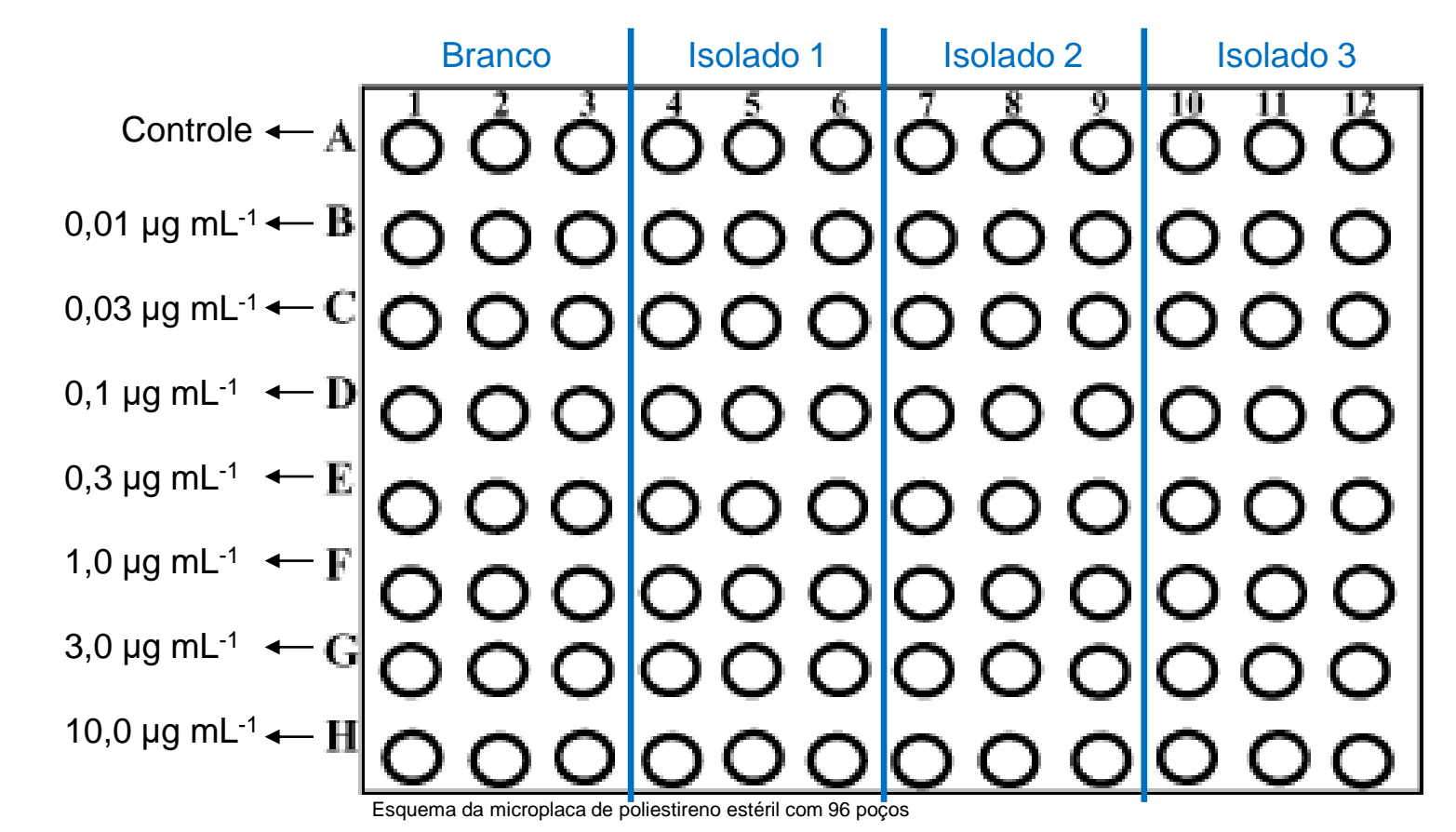


FIGURA 3 - Esquema dos tratamentos na microplaca. Nas colunas estão os isolados e nas linhas estão as diluições dos princípios ativos.

- experimentos mantidos em BOD a 16°C, no escuro, por cinco dias.
- leituras de absorbância a 405 nm foram realizadas em um leitor de microplacas TECAN, mod. Infinite 200 Pro.
- cálculo dos valores de absorbância: a média das triplicatas de cada isolado em cada diluição do fungicida foi subtraída da média das triplicatas do branco/controle negativo da respectiva diluição.

- cálculo de EC₅₀ (concentração do fungicida capaz de reduzir 50% do crescimento do patógeno): plotagem, em escala logarítmica, da % de redução na média das triplicatas, nas diferentes concentrações dos princípios ativos, no eixo Y e da concentração dos fungicidas, em µg.mL⁻¹, no eixo X. A equação de ajuste dos dados foi calculada, bem como o valor de R² para cada isolado em cada fungicida testado.

$$\text{Equação : } Y = -a \cdot \ln(x) + b$$

Onde: a e b = parâmetros da equação; X= concentração do fungicida (µg.mL⁻¹) e Y = % redução do crescimento do patógeno, no caso Y = 50.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

- Os 15 isolados de *P. infestans* apresentaram sensibilidade variável aos princípios ativos analisados.

- Os menores valores de EC₅₀ (Tab. 2) foram observados em:

Ciazofamida para seis isolados de *P. infestans* (PRT, 012C, 035B, 077, 136 e 140)

Clorotalonil para cinco isolados (151, 023, 042, 061 e 117)

Dimetomorfe para três isolados (042, 064 e 093)

Propamocarbe para dois isolados (051 e 109).

TABELA 2 - Valores de EC₅₀ (µg mL⁻¹) para os 15 isolados de *Phytophthora infestans* para os fungicidas ciazofamida, clorotalonil, dimetomorfe e propamocarbe

Isolado	Ciazofamida EC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	Clorotalonil EC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	Dimetomorfe EC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	Propamocarbe EC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
151	0,000369	2,84x10 ⁻⁵	6,849307	8,102545
PRT	0,036492	0,043919	7,894986	9,393238
012C	0,009659	0,05247	7,08912	107,1952
023	0,016987	0,001633	0,948592	57,83516
035B	0,000995	0,037449	0,011926	0,315768
042	0,249111	0,012593	0,012593	3,977605
051	0,012018	4,690103	1,208674	0,004263
061	0,003042	0,000418	0,058881	0,013058
064	0,101859	0,032502	1,27x10 ⁻⁹	0,058646
077	0,000752	0,020731	0,261414	0,69023
093	0,163704	0,399073	1,16x10 ⁻⁵	0,008698
109	0,069486	0,946099	0,077496	0,056091
117	0,136544	1,4x10 ⁻¹¹	0,020134	2,222396
136	0,069766	0,168819	0,168819	65,4758
140	0,00304	0,009281	0,009677	0,301488

- Os valores de EC₅₀ máximo e mínimo para cada princípio ativo apresentaram ampla variação entre os isolados avaliados.

- Os valores elevados de EC₅₀ de propamocarbe para alguns isolados pode ser um artefato da técnica de microtitulação. Este fungicida é eficaz na inibição da germinação de esporos, porém tem pouco efeito na inibição do crescimento micelial. Caso os esporângios da suspensão utilizada no experimento já tenham iniciado a germinação ou se a suspensão apresentar hifas do fungo, o fungicida não é capaz de impedir o crescimento micelial (HU et al., 2007).

- Observa-se que alguns isolados de *P. infestans* apresentam uma variação em sua sensibilidade aos princípios ativos ao longo dos anos (Tab. 3).

TABELA 3 - Comparação dos EC₅₀ obtidos neste trabalho, com os EC₅₀ de outros trabalhos na literatura

Referência	Origem	Fungicida	Metodologia	EC ₅₀ µg mL ⁻¹
Mitani e colaboradores (2001)	Japão	Ciazofamida	ICM	0,006 - 0,03
Zanotta et al.	Brasil	Ciazofamida	Microtitulação	0,00369 – 0,249111
Kato e colaboradores (1997)	EUA	Clorotalonil	ICM	0,21 - 1,47
Oliveira (2010)	Brasil	Clorotalonil	ICM	0,20 - 8,16
Casa-Coila (2014)	Brasil	Clorotalonil	ICM	0,01 - 4,67
Zanotta et al.	Brasil	Clorotalonil	Microtitulação	1,4 x 10⁻¹¹ - 4,690103
Oliveira (2010)	Brasil	Dimetomorfe	Microtitulação	0,03 - 1,46
Zanotta et al.	Brasil	Dimetomorfe	Microtitulação	1,27 x 10⁻¹⁹ - 7,894986
Oliveira (2010)	Brasil	Propamocarbe	ICM	0,1 - 34,10
Rekanović e colaboradores (2011)	Sérvia	Propamocarbe	ICM	12,1 - 31,1
Zanotta et al.	Brasil	Propamocarbe	Microtitulação	0,004263 - 65,4758

AGRADECIMENTOS

