Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* obtidos de tomateiro





República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Luis Carlos Guedes Pinto Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Conselho de Administração

Luiz Gomes de Souza Presidente

Silvio Crestana Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires Hélio Tollini Ernesto Partemiani Cláudia Assunção dos Santos Viegas Membros

Diretoria-Executiva da Embrapa

Silvio Crestana
Diretor-Presidente

José Geraldo Eugênio de Franca Kepler Euclides Filho Tatiana Deane de Abreu Sá Diretores-Executivos

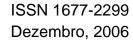
Embrapa Hortaliças

José Amauri Buso Chefe-Geral

Carlos Alberto Lopes
Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Gilmar Paulo Henz Chefe Adjunto de Comunicação, Negócios e Apoio

Osmar Alves Carrijo Chefe Adjunto de Administração





Empresa Brasileira de Pesquisa agropecuária Embrapa Hortaliças Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 15

Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* obtidos de tomateiro

Bruno E. C. Miranda Ailton Reis Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Hortaliças BR 060 Rodovia Brasilia-Anápolis km 9 Caixa Postal 218 70359-970 Brasília-DF Telefone (61) 3385-9009 E-mail: sac.hortalicas@embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Hortaliças:

Presidente: Gilmar P. Henz

Secretária-Executiva: Fabiana S. Spada Editor Técnico: Flávia A. de Alcântara Membros: Alice Maria Quezado Duval

Edson Guiducci Filho

Milza M. Lana

Supervisor editorial: Sieglinde Brune

Normalização bibliográfica: Rosane Mendes Parmagnani

Editoração eletrônica: José Miguel Santos

1ª edição

1ª impressão (2006): 50 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Miranda, Bruno E. C.

Caracterização de isolados de Phytophthora infestans obtidos de tomateiro / Bruno E. C. Miranda, Ailton Reis. — Brasília : Embrapa Hortaliças, 2006.

16 p. ; (Embrapa Hortaliças. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 15)

ISSN 1677-2229

1. Tomate - Doença. 2. Tomate - Fungo. I. Reis, Ailton. II. Título. III. Série

CDD 635.642 (21. ed.)

Sumário

Resumo	6
Abstract	7
Introdução	8
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	12
Conclusões	15
Referências Bibliográficas	15

Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* obtidos de tomateiro

Bruno E. C. Miranda¹ Ailton Reis²

Resumo

O tomateiro (Solanum lycopersicum L. = Lycopersicon esculentum Mill.) é uma das plantas oleráceas mais cultivadas no Brasil e o seu fruto, o tomate, é uma das olerícolas mais consumidas na mesa do brasileiro e muito usado pela agroindústria. Uma das doenças do tomateiro mais temidas pelos produtores é a requeima, causada pelo fungo Phytophtora infestans, que provoca grande destruição na cultura em pouco tempo. Este trabalho teve o objetivo de caracterizar isolados de P. infestans, coletados de tomateiros, quanto ao grupo de compatibilidade, à virulência e à resistência ao fungicida mefenoxan. Vinte e seis isolados foram caracterizados quanto ao grupo de compatibilidade; 24 foram caracterizados quanto à resistência ao mefenoxan; e determinou-se o espectro de virulência de 14 isolados. Todos os 26 isolados testados foram classificados como do grupo A1 de compatibilidade. Em relação à virulência, todos os isolados foram virulentos à cultivar de tomate 'IPA-5'. A maioria foi virulenta em plantas de tomate com os genes Ph1 (92,86%) ou Ph2 (78,57%) e uma pequena parte dos isolados foram virulentos em plantas com o gene Ph3 (21,43%). Quanto à resistência ao mefenoxan, a freqüência de isolados sensíveis, intermediários e resistentes foram de 16,67%, 16,67% e 66,66%, respectivamente. Há evidências da não-reprodução sexuada e formação de oósporos nos campos de tomate do país, retardando o aparecimento da doenca. Devido a um maior número de isolados resistentes ao mefenoxan, o controle da requeima com este fungicida pode ser ineficiente em campo. Uma vez que o patógeno apresentou um amplo espectro de virulência, a utilização de cultivares com resistência vertical a requeima não é recomendada. O manejo integrado da requeima é a forma mais eficaz de se controlar a doença.

Palavras-chave: requeima, variabilidade do patógeno, manejo da doença, virulência, resistência a fungicida

Estudante de Agronomia, Faculdades Integradas da Terra de Brasília, Brasília-DF; Bolsista de iniciação científica, PIBIC-CNPq.

² Eng. Agr., DSc., Embrapa Hortaliças, Brasília-DF. Bolsista do CNPq.

Caracterisation of *Phytophthora infestans* isolates from tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

Abstract

Tomato (Solanum lycopersicum L. = Lycopersicon esculentum Mill.) is a very important vegetable crop in Brazil, for both in natura and processed consume. Late blight, caused by Phytophtora infestans, is the most important disease of tomatoes. It has been very destructive on tomato crops in Brazil. This work aimed to characterise P. infestans isolates collected on tomato in different states of Brazil. Twenty six isolates were characterised for mating type, 24 for mefenoxan resistance, and 14 for virulence. All 26 isolates were of the A1 mating type. In relation to mefenoxan resistance, most isolates were resistant (66.67%) and the others were intermediate (16.66%) or sensible (16.66%). All isolates were virulent to the susceptible cultivar 'IPA-5'. Most isolates were virulent on the *L. esculentum* cultivars 'New Yorker' (92.86%) and 'Moboline' (78.57%) carrying the resistance genes Ph1 and Ph2, respectively. However, only 21.43% of isolates were virulent on the *L. pimpinellifolium* access 'CNPH-1124' carrying the resistance gene Ph-3. There is not evidence of sexual reproduction in the population of *P. infestans* from tomato im Brazil. Because of the high quantity of resistant isolates disease control with mefenoxan must be ineffective in the fields. As the pathogen in Brazil is very variable in virulence, the use of disease resistant cultivars with major genes is not a promissing control measure. Late blight management programs in Brazil must consider these features of pathogen population to be effective.

Index terms: late blight, pathogen variability, disease management, virulence, fungicide resistance.

Introdução

O tomateiro (Solanum lycopersicon L. = Lycopersicon esculentum Mill) é uma planta da família Solanaceae de origem andina, cujo fruto, o tomate, é uma das hortaliças mais populares na mesa do brasileiro. Uma das grandes demandas de consumo são seus derivados provenientes da indústria de processamento, como massa de tomate, "ketchups", molhos, entre outros (BUSO, 2005). Esta é a espécie olerícola com maior volume de produção do país e, dentre as atividades agrícolas, o cultivo do tomateiro tutorado é a mais tecnificada, trabalhosa e sujeita a riscos. A produtividade média do Brasil é de 50 t/ha, mas há regiões onde os agricultores colhem até 90t/ha. As cultivares de mesa mais plantadas atualmente pertencem ao grupo dos tomates 'longa vida', de crescimento indeterminado, que exigem tutoramento, amarrio e desbrota, operações que elevam os custos de produção. Em períodos de baixa oferta, observa-se a comercialização de cultivares para indústria no mercado de tomate para mesa (MAKISHIMA; MIRANDA, 1992).

Cerca de duzentas doenças e distúrbios fisiológicos já foram relatados afetando o tomateiro em todo o mundo. Embora apenas uma média de cinco dessas doenças ou distúrbios apareçam ao mesmo tempo, sua ocorrência pode resultar em grandes danos e prejuízos e pode até limitar a cultura do tomate em algumas épocas de plantio e em regiões do país, pela falta de controle eficaz ou pela elevação do custo de produção com a aplicação de agrotóxicos (LOPES et al., 2005).

Os fungos e pseudofungos são os microorganismos causadores do maior número de doenças de plantas e são o principal problema da cultura do tomate (KUROZAWA; PAVAN, 1997; LOPES et al., 2005). Cerca de 15% dos custos de produção são atribuídos ao uso de fungicidas no combate de doenças causadas por estes patógenos(LOPES et al., 2005). Uma das doenças mais preocupantes do tomateiro, senão a mais temida, é a requeima, causada por Phytophtora infestans (Mont) De Bary (JONES et al., 1991, KUROZAWA; PAVAN, 1997, LOPES et al., 2005).

O patógeno infecta toda a parte aérea da planta, mas os danos são mais evidentes nas folhas que sofrem uma queima progressiva até uma total destruição. O fungo *P. infestans* reproduz-se de maneira assexuada formando os esporângios e os zósporos e de maneira sexuada pela formação dos oósporos. Como P. infestans é uma espécie heterotálica, a formação dos oósporos ocorre quando há o encontro dos dois grupos de compatiblidade, A1 e A2. A sobrevivência de uma estação para outra ocorre em plantas voluntárias, outros hospedeiros e no solo, na forma de oósporos. A doença se desenvolve bem sob temperaturas na faixa de 16-24o C e umidade relativa do ar na faixa dos 91-100%. Os esporos do fungo requerem filme de água para germinar (MIZUBUTI, 2001).

Estudos recentes de biologia de população de *Phytophthora infestans*, utilizando isolados coletados nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, revelaram a presença dos dois grupos de compatibilidade. Associados ao tomateiro somente foram encontrados isolados pertencentes ao grupo A1,

e associados à batateira, a maioria dos isolados pertencem ao grupo de compatibilidade A2 (<u>REIS et al.</u>, 2002). Esta situação se repete na região Centro-Oeste do país (<u>REIS et al.</u>, 2006).

Um dos marcadores biológicos mais utilizados para o estudo das populações de *P. infestans* é a verificação de virulência dos isolados. Os efeitos dos genes maiores para resistência à requeima, existente em cultivares de tomate (genes Ph), ainda estão pouco estudados. Além de servir como marcador em estudos de populações de fitopatógenos, o conhecimento da dinâmica dos genes de virulência de uma população é de grande importância para programas de melhoramento e no manejo de resistência a doenças (REIS et al., 2002).

Na cultura do tomateiro é quase indispensável o uso de agentes químicos no controle de pragas e doenças. O uso de fungicidas no controle das doenças fúngicas é muito grande e chega a ser, em muitas propriedades, indiscriminado. É comum o surgimento de isolados de fungos resistentes a determinados fungicidas devido à aplicação desordenada destes, sem nenhum critério técnico. Desta forma, os indivíduos sensíveis são destruídos, enquanto somente ficam aqueles que são resistentes, que se multiplicam continuamente pelas aplicações sucessivas dos mesmos fungicidas (ZAMBOLIM et al., 1997).

A resistência ao fungicida metalaxyl é um dos marcadores biológicos mais importantes na caracterização e no manejo no manejo de *P. infestans.* Informações sobre organismos

fitopatogênicos resistentes a fungicidas são de grande importância para a tomada de decisão em relação a medidas de controle a serem adotadas pelo produtor. Dentre as diversas recomendações para o manejo da resistência, preconizadas pelo Comitê de Ação de Resistência a Fungicidas (FRAC), o monitoramento ocupa lugar de destaque (GHINI; KIMATI, 2000). Essas medidas são de grande importância para manter, e se possível, aumentar a eficiência de fungicidas por um tempo mais longo (REIS et al., 2005).

Os objetivos deste trabalho foram estabelecer uma coleção de isolados de *P. infestans*, coletados em campos de tomate de diversas regiões produtoras do país e a determinação do grupo de compatibilidade dos mesmos e sua caracterização biológica quanto à virulência e resistência ao fungicida metalaxyl-m (mefenoxan).

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido nas casas de vegetação e no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Hortaliças, localizada em Brasília, Distrito Federal.

Isolamento e preservação de Phytophthora infestans

No primeiro semestre do ano de 2006, 27 isolados de *P. infestans* foram obtidos através de viagens de coleta às principais regiões de produção de tomate industrial e de mesa do país. O isolamento do patógeno foi feito pelo método direto (ERWIN); RIBEIRO, 1996) em meio B de centeio-

sacarose-ágar (CSA) (<u>CATEN</u>; <u>JINKS</u>, <u>1968</u>). Os isolados obtidos foram mantidos em tubos de ensaio com meio CSA, preservados em óleo mineral e armazenados em condições ambiente.

Produção e manutenção de inóculo de Phytophthora infestans

Os isolados foram cultivados em folíolos, coletados de tomateiros entre o estádio de desenvolvimento vegetativo e o início da maturação dos frutos. Para este fim, foi utilizada a cultivar 'IPA-5', também usada como testemunha suscetível em todos os experimentos. Os folíolos foram obtidos de plantas cultivadas em casa de vegetação. Foram colocados três folíolos, com a face abaxial voltada para cima, dentro de câmaras úmidas em caixas gerbox, as quais foram borrifadas com água estéril e inoculadas com pequenas quantidades de micélio e esporângio de cada isolado. As estruturas do patógeno foram retiradas de colônias em meio CSA, com crescimento ativo, com ajuda de um estilete esterilizado e depositadas em cada folíolo. Utilizouse duas caixas para cada isolado. As caixas foram mantidas em incubadora BOD a 190 C e fotoperíodo de 16 h, por seis a sete dias. A cada semana o patógeno era reinoculado em folíolos sadios e conservados nos mesmos procedimentos descritos acima. Assim, mantinha-se uma coleção de isolados ativos, que poderiam ser utilizados a qualquer momento em experimentos de inoculação.

Grupo de compatibilidade

Para a determinação do grupo de compatibilidade, os 27 isolados foram pareados com dois isolados-padrão, um

do grupo A1 (PiEH-102) e um do grupo A2 (PiEH-86). Os pareamentos foram feitos em placas de Petri contendo 20 ml do meio CSA. Um fragmento do meio de cultura, contendo micélio com crescimento ativo do isolado-padrão A1, foi retirado e depositado num dos extremos da placa. Outro fragmento de meio de cultura foi retirado de colônias com oito a 14 dias de cultivo, do isolado desconhecido, e depositado no outro extremo da placa, afastado em 3,5 a 4cm do anterior. O processo foi repetido para o isolado-padrão A2, dessa forma havia duas placas, uma contendo o pareamento do isolado desconhecido com um isolado A1 e outra com isolado A2. As placas foram mantidas em incubadora a 18o C no escuro. Após duas a três semanas de incubação, as placas foram observadas, sob microscópio estereoscópico, para presença de oósporos. Os isolados que apresentaram formação de oósporos com o padrão A1 foram classificados como A2 e os que fizeram com A2 foram classificados com A1.

Resistência a metalaxyl

A resistência de 24 isolados ao fungicida metalaxyl-m (mefenoxan) foi determinada conforme a capacidade dos mesmos de crescerem em meio V8 20% (200 ml de V8 = suco de oito hortalicas, 3g de CaCO3, 18g de ágar e 800ml de água destilada), contendo diferentes concentrações do fungicida (0, 5 e 100 ppm). Discos foram retirados de meios de cultura contendo crescimento abundante de micélio de isolados de P. infestans selecionados. Dois discos foram retirados do meio e cada um foi colocado no centro de uma placa de Petri contendo o meio de cultura V8 20% com 0 ppm

(testemunha). O procedimento foi repetido para os tratamentos com fungicida (5 e 100 ppm). O processo foi repetido para cada isolado selecionado. Após esse processo, as placas foram transferidas para incubadora BOD a 18o C no escuro. Após 12 a 15 dias, dependendo da velocidade de crescimento do patógeno na testemunha, mediu-se o diâmetro das colônias nos diferentes tratamentos, em dois sentidos diametralmente opostos. Após isto, foi calculado o diâmetro médio do crescimento micelial de cada isolado.

Para determinar a reação dos isolados ao fungicida, o crescimento micelial dos tratamentos contendo 5 e 100 ppm de mefenoxam foi dividida pelo crescimento do mesmo isolado, na testemunha (sem fungicida) e multiplicados por 100. Isolados que apresentaram percentagem de crescimento menor que 40% do crescimento observado na testemunha. foram considerados como sensíveis. Isolados que a 5 ppm apresentaram crescimento superior a 40% do crescimento da testemunha, mas que a 100 ppm apresentaram crescimento inferior a 40% em relação à testemunha foram considerados intermediários. Foram considerados como resistentes, isolados com crescimento micelial superior a 40% da testemunha, em 5 e 100 ppm de metalaxyl (THERRIEN et al., 1993). Cada isolado foi testado duas vezes e, em caso de resultados divergentes, o teste foi conduzido uma terceira vez.

Virulência e determinação de raças

A virulência de 14 isolados foi avaliada utilizando-se folíolos de plantas do gênero *Lycopersicon*. Foram utilizadas

plantas dos acessos de L. esculentum CNPH-1538 ('New Yorker') e CNPH-1523 ('Moboline') mais o acesso de L. pimpinellifolium (Just.) Mill. 'CNPH-1124', que possuem os genes de resistência a P. infestans, Ph1, Ph2 e Ph3, respectivamente. Além destas, utilizou-se plantas de *Lycopersicon* hirsutum Humb. & Bonpl. 'CNPH-1121' e 'CNPH-1122' e L. pimpinellifolium 'CNPH-1123', considerados resistentes ao patógeno, mas sem gene de resistência caracterizado. Como testemunha foi utilizada a cultivar 'IPA-5'. Foram utilizados folíolos retirados de tomateiros, cultivados em casa de vegetação, com seis a nove semanas de idade.

Os folíolos foram depositados em câmaras úmidas, feitas com caixas Gerbox e papel de filtro umedecido. Cada isolado a ser inoculado teve três repetições, ou seja, três caixas Gerbox com três folíolos para cada planta diferenciadora. Os folíolos foram inoculados por meio da deposição de 30 ml de uma suspensão, contendo 2 x 104 esporângios/ml (REIS et al., 2002), na face abaxial. O inóculo para preparo da suspensão foi obtido a partir de folíolos de tomate, apresentando esporulação abundante do patógeno. Após a inoculação, as câmaras úmidas foram mantidas em incubadora BOD a 18 ± 20 C e fotoperíodo de 16h por seis a sete dias. Após este período, os folíolos foram observados sob microscópio estereoscópico para presenca ou ausência de esporulação abundante de P. infestans. A interação foi considerada positiva quando havia esporulação abundante em pelo menos um dos folíolos de cada caixa. Foram observados como testes válidos, apenas aqueles em que se observaram lesões

com esporulação abundante em todos os folíolos da testemunha (IPA-5), do contrário o teste era repetido. Cada isolado foi testado pelo menos por duas vezes.

Resultados e Discussão

Os 27 isolados caracterizados apresentaram o grupo de compatibilidade sexual A1 (Tabela 1). A alta especificidade por hospedeiro das linhagens clonais de P. infestans, presentes no Brasil, faz com que isolados A1 estejam associados ao tomateiro, enquanto isolados A2 estão associadas à batata, na qual eventualmente pode se encontrar também isolados A1 (REIS et al., 2002). Foi demonstrado que isolados de P. infestans que infectam tomateiro são mais adaptados a esse hospedeiro que isolados de batata e vice-versa (SUASSUNA et al., 2004). O único isolado de batata avaliado também se comportou como A1. Provavelmente, este isolado tenha migrado de tomateiro para a batateira pois não existe mais plantio comercial de batata na região e próximo ao local onde foi coletado havia tomateiros com requeima.

Verificou-se a ausência de isolados dos dois grupos de compatibilidade causando epidemias em tomate. Isto significa que não deve haver a reprodução sexuada e, provavelmente, a formação de oósporos. No entanto, não se deve descartar totalmente a presença da reprodução sexuada, que pode acontecer e não ser detectada por erros de amostragem ou até mesmo devido à inviabilidade dos oósporos (REIS et al., 2002). Com a reprodução sexuada,

existe a possibilidade de surgimento de isolados que sejam capazes de vencer a resistência do hospedeiro e/ou de se tornarem resistentes aos fungicidas antes eficazes no controle da doença (SUJKOWSKI et al., 1994). Outro aspecto de importância epidemiológica relacionado à reprodução sexuada é a participação de outro tipo de inóculo inicial, os oósporos, que possivelmente passariam a ter papel importante na epidemiologia da doença, contribuindo para um início mais antecipado da epidemia no campo (TURKENSTEEN et al., 2000). Sua ausência faria com que as epidemias iniciassem mais tarde na cultura, diminuindo os gastos com o uso de fungicidas.

A reação dos isolados às diferentes concentrações do fungicida metalaxyl foi variável. Dos 24 isolados testados, somente quatro (16,67%) se apresentaram sensíveis, outros quatro se apresentaram intermediárias (16,67%) e 16 se apresentaram resistentes. Tais resultados são preocupantes, pois uma alta porcentagem de isolados resistentes ao metalaxyl (66,66%) demonstra a ineficácia do fungicida no controle da requeima (Figura 1).

Foto: Arquivo Embrapa Hortaliças

Fig. 1. - Requeima em folhagem de tomate estaqueado

Algumas das prováveis causas da resistência dos isolados de *P. infestans* ao fungicida utilizado no teste seriam a falha no uso do defensivo no campo, como a utilização de doses abaixo do recomendado ou uma má cobertura e redistribuição do produto,

além da superdosagem do produto, gerando a pressão de seleção sobre os isolados. Verificou-se que os isolados que se demonstraram intermediários tiveram seu crescimento inibido com a concentração do fungicida a 100 ppm, confirmando-se a ineficácia da subdosagem deste defensivo

Tabela 1. Origem e grupo de compatibilidade dos isolados de *Phytophthora infestans*, utilizados neste trabalho.

Isolado	Hospedeiro	Cultivar	Local	Grupo de Compatibilidade	
Pi EH – 128	Tomate	Carmen	Alfredo Wagner-SC	A1	
Pi EH – 129	Tomate	Santa Cruz	Tijucas - SC	A1	
Pi EH – 130	Tomate	Carmen	Rancho Queimado-SC	A1	
Pi EH – 132	Tomate	Santa Clara	Florianópolis - SC	A1	
Pi EH – 133	Tomate	Carmen	Alfredo Wagner-SC	A1	
Pi EH – 137	Tomate	Indústria	Patos de Minas-MG	A1	
Pi EH – 138	Tomate	Indústria	Patos de Minas-MG	A1	
PiEH – 139	Batata	Bintje	Gama-DF	A1	
Pi EH – 140	Tomate	Alambra	Paty do Alferes - RJ	A1	
Pi EH – 141	Tomate	Alambra	Paty do Alferes - RJ	A1	
Pi EH – 142	Tomate	Indústria	Patos de Minas-MG	A1	
Pi EH – 143	Tomate	Indústria	Patos de Minas-MG	A1	
Pi EH – 144	Tomate	Indústria	Patos de Minas-MG	A1	
Pi EH – 145	Tomate	Indústria	Patos de Minas-MG	A1	
Pi EH – 146	Tomate	Indústria	Patos de Minas-MG	A1	
Pi EH – 147	Tomate	Indústria	Patos de Minas-MG	A1	
Pi EH – 148	Tomate	Indústria	Patos de Minas-MG	A1	
Pi EH – 149	Tomate	Carmen	Paty do Alferes - RJ	A1	
Pi EH – 150	Tomate	Santa Clara	Planaltina - DF	A1	
Pi EH – 151	Tomate	Carmen	Rancho Queimado-SC	A1	
Pi EH – 152	Tomate	Indústria	Gama - DF	A1	
Pi EH – 153	Tomate	Carmen	Ibicoara - BA	A1	
Pi EH – 154	Tomate	Carmen	Mucugê - BA	A1	
Pi EH – 157	Tomate	Alambra	Rancho Queimado-SC	A1	
Pi EH – 158	Tomate	Alambra	Rancho Queimado-SC	A1	
Pi EH – 159	Tomate	San Vito	Brasília-DF	Α1	

para o controle da requeima. A alta percentagem de isolados resistentes ao produto é preocupante, pois o fungicida metalaxyl é importante no controle químico da requeima, principalmente quando as condições estão mais favoráveis às epidemias.

Estes resultados demonstram a necessidade de se continuar fazendo o monitoramento da população do patógeno em diferentes regiões produtoras de tomate, para se verificar a porcentagem dos isolados que podem se tornar resistentes devido às possíveis mutações e seleção. Um aumento na freqüência de isolados resistentes ou intermediários ao fungicida metalaxyl foi registrado de 1998 a 2000, na Região da Zona da Mata de Minas Gerais, uma das principais produtoras de tomate de mesa deste estado (REIS et al. 2002).

A maioria dos isolados avaliados foi capaz de causar doença na cultivar 'New Yorker', que possui o gene Ph1, e no acesso 'CNPH 1523', que possui o gene Ph2. Já a maioria deles não foi virulenta ao genótipo 'CNPH-1124' (Tabela 2). Tais resultados demonstram que os genes Ph1 e Ph2 não são eficazes contra a maioria dos isolados de P. infestans coletados em campos de tomate do Brasil. Mesmo o gene Ph3 tenderia a ser suplantado pelos isolados de P. infestans, uma vez que, se este for utilizado em cultivares comerciais, a pressão de seleção exercida pelo mesmo tenderia a provocar um aumento na percentagem de isolados capazes de infectar cultivares com este gene.

A virulência dos isolados sobre os demais acessos avaliados foi bastante variável. O acesso 'CNPH-1122' foi

Tabela 2. Virulência de isolados de *Phytophthora infestans* sobre cultivares de tomate

Isolado	IPA-5	N. Yorker	Mobline	CNPH-	CNPH-	CNPH-	CNPH-	Raça
	(Ph-1)	(Ph-2)	(Ph-3)	1124	1121	1122	1123	
PiEH-130	+	+	-	-	-	+	+	1
PiEH-131	+	+	-	+	+	+	-	1,3
PiEH-142	+	+	+	-	NA	NA	+	1,2
PiEH-144	+	+	+	-	NA	NA	+	1,2
PiEH-147	+	+	+	-	NA	NA	+	1,2
PiEH-149	+	-	+	+	NA	NA	+	2,3
PiEH-151	+	+	+	-	NA	NA	+	1,2
PiEH-152	+	+	+	-	+	+	-	1,2
PiEH-153	+	+	+	-	-	+	-	1,2
PiEH-155	+	+	-	+	+	+	-	1,3
PiEH-156	+	+	+	-	+	+	-	1,2
PiEH-157	+	+	+	-	+	+	-	1,2
PiEH-158	+	+	+	-	+	+	-	1,2
PiEH-159	+	+	+	-	-	+	-	1,2

 $NA = N\tilde{a}o$ avaliado. + = Virulento. - = Avirulento.

infetado e apresentou sintomas da doença diante de todos os isolados. A maior parte dos isolados avaliados (67%) foi virulenta ao genótipo 'CNPH-1121', enquanto que 42,86% dos isolados foram virulentos ao acesso 'CNPH-1123'. Portanto, mesmo sem ter seus genes de virulência ainda caracterizados, estes acessos não parecem ser boas fontes de resistência à requeima, principalmente se esta for do tipo raça específica.

Verifica-se que quase todos os isolados (92, 86%) apresentavam genes de virulência compatíveis com o gene Ph1 e a maioria deles (78,57%) com o gene Ph2. Somente 21,43% dos isolados superaram o gene de resistência Ph3, encontrado no genótipo 'CNPH-1124' (Figura 2). A maioria das raças do patógeno possuía pelo menos dois genes de virulência, sendo a combinação dos genes 1 e 2 a mais comum. Nenhuma raça com 3 genes de virulência foi encontrada, apesar de que uma investigação com um número maior

Foto: Ailton Reis

Fig. 2. – Esporangióforos e esporângios de Phytophthora infestans

de isolados poderia resultar na detecção da mesma.

A presença de raças virulentas aos três genes de resistência do tomate nos campos de cultivo pode tornar inviável o usos de variedades com genes maiores de resistência à requeima no Brasil.

Sabe-se também sobre a dificuldade de se obter uma cultivar de tomate que apresente resistência horizontal, devido a dificuldade de se incorporar esta característica em cultivares comerciais de tomate, que mantenham as características comerciais desejáveis numa cultivar de tomate.

Conclusões

- Nos campos de tomate do Brasil existem, aparentemente, somente isolados de P. infestans do grupo de compatibilidade A1. Por esta razão, a reprodução sexuada não deve ocorrer e, conseqüentemente, não ocorre também a produção de oósporos;
- O controle da requeima não é eficiente no campo com a utilização do fungicida metalaxyl-m devido à alta porcentagem de isolados resistentes;
- Devido à presença de isolados muito virulentos, a utilização de cultivares de tomate que apresentam resistência vertical não parece ser viável;
- A solução mais viável para o controle da requeima do tomateiro é a aplicação de um manejo integrado da doença.

Referências Bibliográficas

BUSO, J. A. Introdução. In: LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. (Ed.). **Doenças do tomateiro.** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2005.

CATEN, C. E.; JINKS, J. L. Spontaneous variability of single isolates of *Phytophthora infestans*. I. Cultural variation. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 46, p. 329-348, 1968.

ERWIN, D. C.; RIBEIRO, O. K. *Phytophthora* **diseases worldwide.** St. Paul: APS Press, 1996. 562 p.

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

JONES, J. B., JONES, J. P.; STALL, R.; ZITTER, T. A. **Compendium of tomato diseases.** St. Paul: APS Press, 1991.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: v 2: doenças de plantas cultivadas.** São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 690-719.

LOPES, C. A., REIS, A.; BOITEUX, L. S. Doenças fúngicas. In: LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. (Ed.). **Doenças do tomateiro.** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2005. p. 17-52.

MAKISHIMA, N.; MIRANDA, J. E. C. (Ed.). **Cultivo do tomate** (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Brasília, DF: CNPH, 1992. 22 p. (Embrapa-CNPH. Instruções Técnicas, 11)

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

REIS, A.; SUASSUNA, N. D.; ALFENAS, A. C.; MIZUBUTI, E. S. G. Monitoramento da população de *Phytophthora infestans* na Região da Zona da Mata de Minas gerais de 1998 a 2000. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, p. 614-620, 2002.

REIS, A.; RIBEIRO, F. H. S.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Sensitivity of Brazilian isolates of *Phytophthora infestans* to commonly used fungicides in tomato and potato crops. **Plant Disease**, Saint Paul v. 89, p. ,2005.

REIS, A.; RIBEIRO, F. H. S.; MIZUBUTI, E. S. G. Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* do Distrito Federal e de Goiás. **Fitopatologia Brasileira**, Brasilia, DF, v. 31, n. 3, p. 270-276, 2006.

SUASSUNA, N. D.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Aggressiveness and host specificity of Brazilian isolates of *Phytophthora infestans*. **Plant Pathology**, London, v. 53, p. 405-413, 2004.

SUJKOWSKI, L. S.; GOODWIN, S. B.; DYER, A. T.; FRY, W. E. Increased genotypic diversity via migration and possible occurrence of sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Poland. **Phytopathology**, St. Paul, v. 84, p. 201-207, 1994.

THERRIEN, C. D.; TOOLEY, P. W.; SPIELMAN, L. J.; FRY, W. E.; RITCH, D. L.; SHELLY, S. E. Nuclear DNA content, allozyme phenothypes and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* from Japan. **Mycological Research**, Cambridge. v. 97, p. 945-950, 1993.

TURKENSTEEN, L. J., FLIER, W. G., WANNIGEN, R.; MULDER, A. Production, survival and infectivity of oospores of *Phytophthora infestans*. **Plant Pathology**, London, v. 49, p. 688-696, 2000.

ZAMBOLIM, L., COSTA, H.; VALE, F. X. R. Controle integrado de doenças de hortaliças. Viçosa, 1997. 122 p.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento BR 060 Km 09 Brasília/Anápolis Caixa Postal 218 CEP 70359-970 Brasília, DF Fone: (61) 3385-9110 Fax: (61) 3385-9042 sac.hortalicas@embrapa.br www.cnph.embrapa.br

