

MONITORAMENTO DA POPULAÇÃO DE *Phytophthora infestans* NA REGIÃO DA ZONA DA MATA DE MINAS GERAIS DE 1998 A 2000

AILTON REIS¹, NELSON D. SUASSUNA², ACELINO C. ALFENAS³ & EDUARDO S. G. MIZUBUTI³

¹Embrapa Hortaliças, Cx. Postal 218, CEP 70359-970, Brasília, DF; ²Embrapa Algodão, Cx. Postal 174, CEP 58107-720, Campina Grande, PB; ³Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, CEP 36571-000, Viçosa, MG, e-mail: mizubuti@ufv.br

(Aceito para publicação em 10/09/2002)

Autor para correspondência: Eduardo S. G. Mizubuti

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* 27:614-620. 2002.

RESUMO

Foram caracterizados 212 isolados de *Phytophthora infestans* obtidos de 51 lavouras de tomate (*Lycopersicon esculentum*) e batata (*Solanum tuberosum*), em sete municípios da Zona da Mata, MG. Todos os isolados tiveram o grupo de compatibilidade determinado; 96 isolados foram caracterizados para a isoenzima glucose 6-fosfato-isomerase (*Gpi*); 71 isolados foram analisados quanto à resistência ao metalaxyl; e determinou-se o espectro de virulência de 46 isolados. Todos os 212 isolados testados foram classificados como do grupo A1 de compatibilidade. A maioria dos isolados testados para *Gpi* (95) apresentou o fenótipo 86/100, típico da linhagem clonal US-1. Apenas um isolado apresentou o fenótipo 100/100 para *Gpi*. Quanto à resistência ao metalaxyl, em 1998 a frequência de isolados sensíveis, intermediários e resistentes foi de 40%, 40%

e 20%, respectivamente, e em 2000 de 3,2%; 61,3% e 35,5%, respectivamente. Quanto ao espectro de virulência, todos os 46 isolados analisados foram virulentos sobre a cultivar de tomate 'Kada'. A maioria foi virulenta em plantas de tomate com os genes *Ph1* (91%) ou *Ph2* (95%). Todos os isolados foram virulentos em batata 'Bintje'. Houve pequena variação do espectro de virulência sobre clones de batata, quando esses foram inoculados com isolados coletados em diferentes anos. Há evidências que a população de *P. infestans* da Zona da Mata, MG é constituída de isolados da linhagem clonal US-1, de várias raças e baixa sensibilidade ao fungicida metalaxyl.

Palavras-chave adicionais: requeima, tomate, batata, variabilidade genética, resistência, patótipos, resistência a fungicida.

ABSTRACT

Monitoring *Phytophthora infestans* population in the Zona da Mata region of Minas Gerais, Brazil, from 1998 to 2000

From 1998 to 2000, 212 isolates of *Phytophthora infestans* were collected in tomato (*Lycopersicon esculentum*) and potato (*Solanum tuberosum*) fields of the Zona da Mata region of the State of Minas Gerais, Brazil. Samples were taken from 41 commercial tomato and ten experimental potato fields. Isolates were characterized for mating type, glucose 6-phosphate-isomerase alloenzyme (*Gpi*), metalaxyl resistance using the leaf disc method, and pathogenicity and virulence. All isolates were of the A1-mating type. Of the 96 isolates tested for *Gpi*, 95 had the 86/100 phenotype, typical of the US-1 clonal lineage, and one was of the 100/100 genotype. In 1998, the frequency of isolates sensitive (S), intermediate (I), or resistant (R) to metalaxyl was

40%, 40%, and 20%, respectively. In 2000 there was a change in the frequency in each class of metalaxyl resistance: 3.2% (S); 61.3% (I); and 35.5% (R). All isolates were virulent when inoculated in tomato 'Kada' and potato 'Bintje'. The majority of the isolates were virulent on tomato containing *Ph1* (91%) or *Ph2* (95%) genes. Eight isolates were virulent to a potato clone containing *R1* gene; and 15 were virulent on a *R11* clone. Virulence on potato clones carrying genes *R1* and *R11* was much lower than on tomato cultivars carrying genes *Ph1* and *Ph2*. The population of *P. infestans* in the Zona da Mata region seems to be comprised of isolates of the US-1 clonal lineage, with high race variability and low sensitivity to metalaxyl.

INTRODUÇÃO

A Zona da Mata é uma importante região produtora de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) de mesa no Estado de Minas Gerais. No ano de 2000, nesta região, foram produzidas 30.389 toneladas de tomate, o que corresponde a, aproximadamente, 10% da produção total do Estado. A área plantada foi de 642 ha com um rendimento médio de 47,33 ton/ha (IBGE, 2000). Os principais municípios produtores são: Tocantins, Coimbra, Piraúba e Guiricema. A maior parte da produção concentra-se nos meses de inverno e, nesse

período, as condições climáticas favorecem a requeima ou mela causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, principal doença da cultura. Nessa época do ano ocorrem temperaturas amenas e baixo índice pluviométrico, mas a irrigação proporciona condições para a formação de orvalho durante a noite, permitindo a ocorrência de molhamento foliar. O uso de fungicidas é a principal medida de controle da doença (Mizubuti, 2001).

Phytophthora infestans é um organismo heterotálico e sua reprodução sexuada ocorre quando há cruzamento de isolados dos grupos de compatibilidade A1 e A2 (Erwin &

Ribeiro, 1996; Goodwin, 1997). A ocorrência de isolados dos dois grupos numa mesma região, sobre a mesma cultura, aumenta as chances de reprodução sexuada e o surgimento de recombinantes, os quais podem apresentar características superiores de adaptabilidade: tais como maior agressividade e virulência, e tolerância ou resistência a fungicidas, dificultando ainda mais o manejo da doença (Goodwin, 1997). A ocorrência de reprodução sexuada trouxe conseqüências como a geração e o estabelecimento de uma nova linhagem do patógeno, mais agressiva que as existentes tanto em tomate como em batata (*Solanum tuberosum* L.) (Gavino *et al.*, 2000), e a participação de outro tipo de inóculo inicial, os oósporos, que possivelmente passaram a ter papel importante na epidemiologia da doença, contribuindo para início mais antecipado da epidemia no campo (Turkensteen *et al.*, 2000).

As recentes mudanças na população de *P. infestans* contribuíram para aumentar a chance de recombinação e, por conseguinte, aumentar a variabilidade genética do patógeno. Migrações de *P. infestans* do México, centro de origem do patógeno, trouxeram novos isolados tanto do grupo A1, como A2, para vários países da América do Norte, Europa, Ásia e América do Sul (Fry & Goodwin, 1997). Estes novos genótipos representam um problema a mais para o manejo da doença, pois a maioria é resistente ao metalaxyl e mais agressiva e, ou, virulenta que os genótipos antigos presentes nestes países (Fry & Goodwin, 1997).

Em estudos realizados há aproximadamente 16 anos, constataram-se isolados dos dois grupos de compatibilidade (A1 e A2) de *P. infestans* na região da Zona da Mata. Associados à cultura do tomate só foram encontrados isolados do grupo A1, enquanto os isolados de batata, à exceção de um, foram todos do grupo A2 (Brommonschenkel, 1988). Apesar de, naquela época, ter sido observada alta especificidade por hospedeiro e ausência de evidências de reprodução sexuada, é possível que, com o cultivo quase continuado de tomate na Zona da Mata, tenha havido mudanças na população do patógeno. Para averiguar a ocorrência ou não de mudanças na população do patógeno é necessário caracterizar os indivíduos que a compõem.

Até algum tempo atrás, estudos de população de fitopatógenos eram feitos por meio de inferências sobre a variabilidade de virulência observada dentro e entre populações (McDonald & McDermott, 1993). O papel dos genes de efeito principal para resistência a *P. infestans*, existentes em cultivares de batata (genes *R*) e em tomate (genes *Ph*), na especificidade de hospedeiro ainda está pouco estudado. No Equador, Oyarzun *et al.* (1998) observaram que a virulência específica em clones diferenciadores de batata foi mais ampla entre os isolados de *P. infestans* obtidos de batata, enquanto que a virulência específica em cultivares de tomate foi maior entre isolados de tomate. Além de servir como marcador em estudos de populações de fitopatógenos, o conhecimento da dinâmica dos genes de virulência de uma população é importante para programas de melhoramento e no manejo da resistência a doenças.

Atualmente, outros marcadores têm sido utilizados para a caracterização de populações de fitopatógenos. No caso de *P. infestans*, os mais utilizados são: grupo de compatibilidade, fenótipos para as isoenzimas glucose 6-fosfato-isomerase (*Gpi*) e peptidase (*Pep*), RFLP dos DNAs genômico (sonda RG-57) e mitocondrial (mtDNA), e resistência ao fungicida metalaxyl. Muitas vezes, apenas o grupo de compatibilidade mais a enzima *Gpi* são suficientes para diferenciar populações de *P. infestans* de determinadas regiões ou países.

Além de ser um marcador útil, a resistência ao metalaxyl é uma característica importante para o manejo da doença. As informações advindas do monitoramento espaço-temporal de populações de fitopatógenos resistentes a fungicidas são importantes para subsidiarem medidas de manejo. 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). Tais medidas são importantes para manter, e se possível, aumentar a eficiência de fungicidas. Cabe ressaltar que, na região da Zona da Mata de Minas Gerais, as lavouras de tomate são conduzidas por pequenos agricultores e muitas envolvem a participação de meeiros. A otimização das estratégias de controle, para redução dos custos de produção e dos problemas relacionados à poluição ambiental, é importante para aumentar a margem de lucro e possibilitar maior sustentabilidade da atividade.

Neste trabalho, monitorou-se a população de *P. infestans* na Zona da Mata de Minas Gerais, de 1998 a 2000, com objetivo de testar as seguintes hipóteses: 1) Mesmo com a presença dos dois grupos de compatibilidade na região, a partir da década de 80, a população de *P. infestans* mantém a estrutura clonal; 2) Uma vez que não há cultivos comerciais de batata na região e as variedades e híbridos de tomate cultivados não apresentam genes maiores (*Ph*) de resistência, a população de *P. infestans* apresenta baixa complexidade de virulência; e 3) Há isolados de *P. infestans* resistentes ao metalaxyl e os níveis de resistência podem aumentar de um ano para outro.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolados de *Phytophthora infestans*

No período de abril de 1998 a agosto de 2000, foram obtidos 212 isolados de *P. infestans* provenientes de folhas e de frutos de tomate, coletados em lavouras comerciais ou experimentais, de sete municípios da região da Zona da Mata de Minas Gerais. Coletaram-se, também, folhas infetadas de batata, de campos experimentais instalados na região (Tabela 1). As coletas foram realizadas em 51 campos, dez de batata e 41 de tomate. O número de isolados coletados por campo variou de um a dez. O isolamento do patógeno foi feito pelo método direto (Erwin & Ribeiro, 1996) em meio B de centeio-sacarose-ágar (CSA) (Caten & Jinks, 1968). Os isolados obtidos foram mantidos em tubos de ensaio com meio CSA e preservados em óleo mineral.

TABELA 1 - Número de lavouras amostradas e de isolados de *Phytophthora infestans* obtidos em municípios da Zona da Mata de Minas Gerais. Os números entre parênteses indicam campos e isolados de batata (*Solanum tuberosum*), os demais indicam campos e isolados de tomate (*Lycopersicon esculentum*)

Município	1998		1999		2000		Total de Isolados
	Lavouras	Isolados	Lavouras	Isolados	Lavouras	Isolados	
Cajuri	5	31	-	-	2	10	41
Coimbra	3	12	-	-	3	10	22
Piraúba	2	3	2	17	2	6	26
Rio Pomba	2	4	-	-	-	-	4
Teixeiras	-	-	-	-	2 (1)	7 (4)	7 (4)
Tocantins	-	-	-	-	3	16	16
Viçosa	10 (3)	33 (11)	5 (3)	37 (19)	10 (3)	26 (9)	96 (39)
Total	22	83	7	54	22	75	212 (43)

Caracterização dos isolados

Os isolados foram caracterizados quanto aos seguintes marcadores: grupo de compatibilidade, fenótipo para a isoenzima glucose-6-fosfato-isomerase (*Gpi*), resistência ao fungicida metalaxyl e virulência.

Grupo de Compatibilidade

Os 212 isolados obtidos foram pareados com dois isolados-padrão, um do grupo A1 (pertencente à linhagem clonal US-1) e um do grupo A2 (linhagem clonal US-8). Os pareamentos foram feitos em placas de Petri contendo 20 ml de meio V8 (10%) clarificado (Erwin & Ribeiro, 1996). Um fragmento de meio de cultura, com aproximadamente 0,5 cm de largura (L) x 3 cm de comprimento (C), contendo micélio com crescimento ativo de um isolado-padrão, foi retirado e depositado num dos extremos da placa. Outro fragmento (0,5 a 0,6 cm de L x 5 cm de C) 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 4 cm do anterior. O processo foi repetido para o outro isolado-padrão, dessa forma havia duas placas, uma contendo o pareamento do isolado desconhecido com um isolado A1 (US-1) e outra com o isolado A2 (US-8). As placas foram mantidas em incubadora BOD a 18 °C no escuro. Após duas semanas de incubação, as placas foram observadas, sob microscópio estereoscópico, para a presença de oósporos. Os isolados que apresentaram formação de oósporos com o padrão A1 foram classificados como A2 e os que o fizeram com o padrão A2, foram classificados como A1. As interações dúbias foram repetidas. Alguns dos isolados foram testados para a possibilidade de autocompatibilidade por meio do pareamento de dois fragmentos da mesma cultura.

Isoenzima (*Gpi*)

Analisou-se o fenótipo da isoenzima *Gpi* de 96 isolados de *P. infestans*. Dois tipos de eletroforese foram empregados. Para 42 isolados coletados no ano de 1998 foi utilizada a eletroforese de enzimas em gel de acetato de celulose, conforme descrito por Goodwin *et al.* (1995). Para os demais isolados (54), foi utilizada eletroforese em gel de amido, conforme descrito por Goodwin *et al.* (1994a). Os alelos que codificam para a enzima *Gpi* foram determinados por números

que representam a mobilidade relativa das bandas no gel, em percentagem, com relação a padrões previamente estabelecidos (Goodwin *et al.*, 1995).

Resistência ao Metalaxyl

A resistência ao fungicida metalaxyl foi determinada baseada na capacidade do patógeno de esporular sobre discos de folha do hospedeiro (Sozzi & Staub, 1987; Matuszak *et al.*, 1994). Discos de 13 mm de diâmetro foram retirados de folíolos de tomateiro cv. Kada, cultivados em casa de vegetação, com seis a 12 semanas de idade. Cinco discos de folhas foram postos para flutuar, com a face abaxial voltada para cima, em placas de Petri de 5,5 cm de diâmetro, contendo 10 ml de uma suspensão de 0, 5, ou 100 ppm de metalaxyl (Ridomil 2E).

Cada disco foi inoculado com uma gota de 10 µl de uma suspensão de inóculo de *P. infestans*, contendo de 1 a 2 x 10⁴ esporângios/ml. O inóculo foi preparado a partir de folíolos de tomate cv. Kada apresentando esporulação abundante do patógeno. Após a inoculação, as placas foram transferidas para incubadoras BOD, mantidas a 18 °C com fotoperíodo de 16 h. A avaliação foi realizada após seis dias de incubação, estimando-se a esporulação do patógeno sobre os discos com auxílio de uma escala de notas com seis classes: 0 = sem sintomas aparentes, 1 = necrose sem esporulação, 2 = até 5% de esporulação e 3, 4, 5 = 5-20%, 20-50% e mais de 50% da superfície do disco coberta por esporulação do patógeno, respectivamente (Sozzi *et al.*, 1992). Cada isolado foi testado duas vezes. Para o caso de resultados divergentes, o teste foi conduzido uma terceira vez.

Para determinar a reação dos isolados ao metalaxyl, a porcentagem de esporulação nos discos de folha postos para flutuar em suspensão contendo 5 ou 100 ppm de metalaxyl foi dividida pela porcentagem de esporulação do mesmo isolado, na testemunha (sem metalaxyl) e multiplicada por 100. Isolados que apresentaram esporulação menor que 40% da observada no tratamento testemunha foram considerados como sensíveis. Isolados que, a 5 ppm, apresentaram esporulação superior a 40% da esporulação da testemunha, mas que, a 100 ppm, apresentaram esporulação inferior a 40% em relação à testemunha, foram considerados intermediários. Foram considerados como resistentes, isolados com

esporulação superior a 40% da testemunha, em 5 e 100 ppm de metalaxyl (Therrien *et al.*, 1993).

Virulência

A virulência de 46 isolados foi determinada utilizando-se o procedimento de discos de folhas, similar ao utilizado no teste de resistência ao metalaxyl (Hermansen *et al.*, 2000).

As plantas de tomate 'New Yorker' e 'Caline' que possuem os genes de resistência a *P. infestans*, *Ph1* e *Ph2*, respectivamente, foram cultivadas em casa de vegetação e utilizadas como padrões de resistência. Como testemunha foi utilizada a cultivar Kada, que em outros testes foi suscetível a todos os isolados inoculados. Foram coletados folíolos de plantas de tomate em estágio de desenvolvimento entre o início da floração até a maturação dos primeiros frutos. Trinta e três dos 46 isolados também foram avaliados para determinação de virulência em clones de batata possuindo genes de efeito principal (*R1* e *R11*) e 19 foram testados em toda série diferenciadora de batata (*R1* a *R11* exceto *R6* e *R9*) e na cultivar Bintje (sem genes de efeito principal) para permitir a determinação de patótipos mais complexos (com maior número de genes de avirulência). O propósito da inoculação de isolados obtidos de tomate em diferenciadoras de batata foi o de verificar se os isolados da Zona da Mata, predominantemente adaptados a tomate, apresentam virulência em batata. As plantas foram crescidas em casa de vegetação e foram utilizados folíolos de plantas com seis a nove semanas de idade.

Para ambas as espécies hospedeiras, cinco discos de 15 mm de diâmetro, de cada cultivar ou clone foram postos para flutuar em placas de Petri plásticas de 5,5 ou 9 cm de diâmetro, contendo 10 ou 20 ml de água esterilizada, respectivamente. Os discos foram inoculados por meio da deposição de 30 µl de uma suspensão, contendo 2 a 2,5 x 10⁴ esporângios/ml, na face abaxial de cada disco. Os esporângios para preparo da suspensão de inóculo foram obtidos conforme descrito no teste do metalaxyl em discos de folha. Após a inoculação, as placas foram mantidas a 18±2 °C e fotoperíodo de 16 h por seis a sete dias. Após este período, os discos foram observados sob microscópio estereoscópico para presença ou ausência de esporulação de *P. infestans*. A interação foi considerada positiva quando havia esporulação em pelo menos metade dos discos. Foram considerados como testes válidos, apenas aqueles em que se observaram lesões com esporulação abundante nas cultivares testemunhas (Kada e Bintje). Caso não houvesse lesões com esporulação abundante nas testemunhas, o teste era repetido. Cada isolado foi testado por, pelo menos, duas vezes.

O número de genes de virulência de cada isolado foi determinado por meio do número de interações compatíveis sobre a série diferenciadora de tomate e batata (Tooley *et al.*, 1986).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os 212 isolados caracterizados apresentaram o grupo de compatibilidade sexual A1. À exceção de um isolado

coletado em 1998, os demais apresentam fenótipo 86/100 para a enzima *Gpi*. O único isolado que diferiu dos demais para a enzima *Gpi*, apresentou fenótipo 100/100. O fenótipo 86/100 é típico da linhagem clonal antiga de *P. infestans*, US-1, identificada inicialmente nos Estados Unidos (Goodwin *et al.*, 1994a e b) e que, até pouco tempo, apresentava ampla distribuição na maioria dos países onde a população do patógeno foi caracterizada (Goodwin *et al.*, 1994b). A alta uniformidade entre os isolados testados para os marcadores grupo de compatibilidade e *Gpi*, já fora observada em trabalhos com isolados da Zona da Mata de Minas Gerais (Brommonschenkel, 1988) e, mais recentemente, com isolados das regiões Sul e Sudeste do Brasil (Reis, 2001). O único isolado que diferiu dos demais para a enzima *Gpi*, era do grupo A1, e pode ser considerado um variante da linhagem US-1. O isolado apresentou fenótipo 100/100 para *Gpi*, ao invés de 86/100. Este fenótipo ocorre com frequência em linhagens novas de *P. infestans* (Goodwin *et al.*, 1994b), entretanto é provável que este isolado pertença a um dos variantes de US-1 que tenha sofrido mutação no alelo que codifica para o componente de mobilidade 86 da enzima ou que tenha havido recombinação mitótica (parassexualismo). Variantes da linhagem clonal US-1 com o fenótipo 100/100 para a enzima *Gpi* já foram encontrados entre isolados coletados em outras partes do Brasil (Goodwin *et al.*, 1994b; Reis, 2001), e em outros países (Goodwin *et al.*, 1994b). Para uma confirmação da hipótese de o mesmo ser um variante de US-1 ou uma nova linhagem clonal de *P. infestans*, é necessário realizar a análise de RFLP do DNA nuclear com a sonda RG57 ou RFLP do DNA mitocondrial.

A população de *P. infestans* na Zona da Mata continua clonal. Utilizando a isoenzima *Gpi* como marcador, não foram detectados isolados recombinantes. Em outros países, tão logo isolados A2 foram introduzidos foi possível constatar uma população recombinante (Drenth, *et al.*, 1994; Goodwin *et al.*, 1998; Gavino *et al.*, 2000; Turkensteen, *et al.*, 2000). Como mencionado anteriormente, já houve registro de isolados do grupo A2 causando epidemias em batata na Zona da Mata (Brommonschenkel, 1988), porém, mesmo passados 15 anos deste relato, ainda não foi possível detectar uma população recombinante. Algumas razões para esse fato são: *i.* a alta especificidade por hospedeiro verificada nas populações de *P. infestans* no Brasil; *ii.* a não existência de áreas expressivas com a cultura da batata na Zona da Mata, o que dificultaria a ocorrência simultânea no tempo e no espaço de isolados A1 e A2; *iii.* a baixa taxa de migração de isolados A2 de outros locais do Brasil para a Zona da Mata e *iv.* os oósporos que resultam da reprodução sexuada não são viáveis.

A alta especificidade por hospedeiro faz com que isolados A1 estejam associados ao tomateiro, enquanto isolados A2 estão associados à batata. Foi demonstrado que, isolados de *P. infestans* que infetam tomateiro são mais adaptados a esse hospedeiro que isolados oriundos de batata e vice versa (Suassuna *et al.*, 2001). A ocorrência de isolados de dois grupos de compatibilidade causando epidemias em tomate, numa intensidade que permitisse formação de

oósporos em número suficiente, seria pouco provável. Na Zona da Mata de Minas Gerais praticamente não há lavouras comerciais de batata, portanto, espera-se que haja pouco inóculo de isolados A2 e que a quantidade de batata semente importada de outras regiões seja pequena. Dessa forma, a taxa de migração, via batata semente, de novos genótipos seria desprezível. Ainda assim, não é possível eliminar de modo taxativo a não ocorrência de reprodução sexuada. É possível que esse processo esteja ocorrendo e não tenha sido detectado (problemas de amostragem) ou que oósporos produzidos não são viáveis. Além de não haver evidências fortes nos dados gerados com os marcadores, não há evidência biológica da ocorrência da reprodução sexuada por nunca se ter encontrado oósporos nos materiais vegetais analisados. Adicionalmente, está se testando, no Laboratório de Epidemiologia da UFV, a hipótese de que os oósporos formados não são viáveis.

Ao contrário do que ocorreu em outros países, não houve desalojamento da linhagem clonal US-1 em tomate na Zona da Mata de Minas Gerais. Em vários locais, com a introdução dos novos genótipos de *P. infestans* houve desalojamento das populações existentes por isolados mais agressivos e, em muitos casos, resistentes ao metalaxyl (Day & Shattock, 1997). Acredita-se que a introdução de novos genótipos de *P. infestans* no Brasil tenha ocorrido por meio de batata semente. Portanto, é provável que os genótipos introduzidos eram mais adaptados a batata que ao tomateiro. Além desse aspecto, a não existência de plantios comerciais de batata na região dificulta a introdução de novos genótipos no local.

Houve grande variação dos isolados testados quanto à resistência ao fungicida metalaxyl. Em todos os anos amostrados, constataram-se isolados sensíveis, intermediários e resistentes. No ano de 1998, 40% dos isolados foram classificados como sensíveis; 40% como intermediários e 20% como resistentes. Em 1999, observou-se que 70% dos isolados apresentaram nível de resistência intermediário; 25% foram sensíveis e 5%, resistentes. Em 2000, a proporção de isolados intermediários foi de 61,3%, a de sensíveis reduziu para 3,2%, enquanto a de resistentes aumentou para 35,5% (Figura 1).

Em 1998, a proporção de isolados do patógeno resistentes, intermediários e sensíveis ao metalaxyl foi bastante variável devido, provavelmente, a coleta ter sido feita em campos de diferentes idades de plantio e com diferentes históricos de aplicações de formulações à base de metalaxyl. Alguns isolados eram provenientes de campos onde não se aplicou o fungicida metalaxyl e outros de campos onde foram realizadas uma ou mais pulverizações com o produto metalaxyl + mancozeb (Ridomil Mancozeb) e, ou, metalaxyl + clorotalonil (Fólio). Em 1999, um número menor de lavouras foi amostrado em um curto período de tempo. Nesse ano, a proporção de isolados intermediários foi maior que a das duas outras classes. Em apenas uma das lavouras amostradas havia sido aplicado metalaxyl. No ano de 2000, os isolados intermediários continuaram predominando, mas houve um aumento na proporção de isolados resistentes. Em

2000, assim como em 1998, as coletas foram feitas em vários campos, de diferentes estádios e com históricos variados de pulverizações com metalaxyl. Considerando os três anos, a alta proporção de isolados com resistência intermediária ao metalaxyl, principalmente em campos onde não se utilizou este fungicida, pode indicar que os mesmos sejam mais adaptados que os isolados resistentes e até mesmo que os sensíveis. Entretanto, o mais provável seria a seleção destes por falhas no uso do fungicida, como a utilização de subdosagens ou uma má cobertura e redistribuição do produto. Outra possibilidade é a contaminação com inóculo vindo de lavouras mais antigas, com alta frequência de isolados com resistência intermediária ao fungicida.

No geral, registrou-se um aumento na frequência de isolados resistentes ou moderadamente resistente (intermediários) ao fungicida metalaxyl de 1998 para 2000. O decréscimo na frequência dos resistentes e o grande aumento dos isolados intermediários em 1999 pode ter sido causado por problemas de amostragem, uma vez que poucas lavouras foram visitadas. Enquanto isso, o aumento na resistência de 1998 para 2000 é preocupante pois o fungicida é importante no controle químico da requeima, principalmente quando as condições estão muito favoráveis às epidemias. A maioria dos fungicidas não é capaz de controlar de forma eficiente a requeima quando as condições são muito favoráveis à doença (Maziero, 2001). Nessas situações, não raro, utiliza-se o produto de forma irracional com superdosagem e/ou, alta frequência. A fim de reduzir a seleção de isolados resistentes e aumentar a vida útil do fungicida, é necessário utilizar o metalaxyl de forma adequada, como preconizado pelo fabricante (Gisi & Cohen, 1996).

Todos os isolados testados foram virulentos às cultivares Kada e Bintje. No geral, todos os isolados, à exceção de dois (96%), foram compatíveis com a cultivar Caline, que possui o gene *Ph2*. A maioria dos isolados, 91%, foi

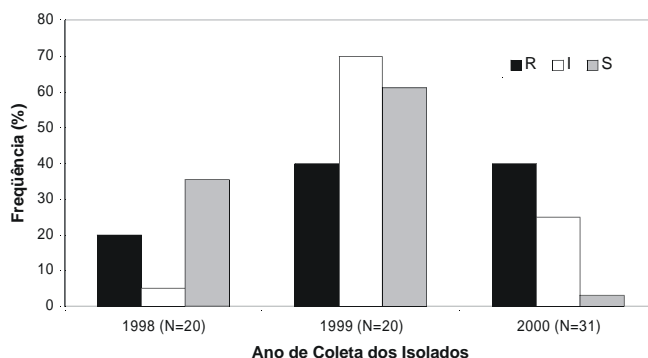


FIG. 1 - Frequência de isolados de *Phytophthora infestans* resistentes (R), intermediários (I) e sensíveis (S) ao fungicida metalaxyl. Os isolados foram coletados na Zona da Mata de Minas Gerais em 1998, 1999 e 2000 e a sensibilidade ao fungicida foi determinada pelo método do disco de folha. (N = número de isolados).

compatível com a cultivar New Yorker, que possui o gene *Ph1*. Já para os genes *R* nos clones de batata, o espectro de virulência foi menor (Figura 2A) e quase a metade dos isolados (45%) foi compatível com o clone *R11* e uma proporção menor, 20%, foi compatível com o clone *R1*. Os 19 isolados testados na série diferenciadora apresentaram alta variabilidade. Todos os isolados foram virulentos na cultivar Bintje, apenas dois foram virulentos no clone *R1*, seis no clone *R2*, 18 nos clones *R3* e *R4*, dois no clone *R5*, 14 no clone *R7*, três no clone *R8* e dez nos clones *R10* e *R11*.

Há diferenças quanto ao espectro de virulência de isolados de *P. infestans* de acordo com o hospedeiro preferencial – tomate ou batata. Em 1959, a ocorrência de raças de *P. infestans* no Estado de São Paulo seguia um padrão distinto. A maioria dos isolados provenientes de batata eram patogênicos em clones de batata possuindo os genes *R4* e *R1,4*, enquanto os isolados de tomate, preferencialmente, eram patogênicos em clones *R0*, *R3* e *R3,4*, indicando uma certa “preferência” por hospedeiro. Todavia, nesse trabalho, os isolados foram testados apenas na série diferenciadora de batata conhecida até aquela época; genes *R1* a *R4* e combinações (Ciccarone *et al.*, 1959). A maioria dos isolados atuais de tomate mantém a característica de não apresentar reação compatível com o clone *R1*. Menor especialização de isolados de tomate em clones de batata com os genes *R1* e *R11* já fora relatado (Castro & Shaw, 1992). Tais resultados estão em conformidade com recentes observações para os isolados de tomate de todo o Brasil (Reis, 2001). Comparando os diferentes anos de amostragem, aparentemente, não houve muita diferença quanto aos espectros de virulência de *P. infestans* nos diferentes clones (Figura 2B). As diferenças observadas são pequenas e, provavelmente, refletem problemas de amostragem, uma vez que as cultivares de tomate utilizadas na região não mudaram nesses anos, não havendo, portanto, pressão de seleção sobre a população do patógeno.

Os resultados obtidos nos testes de virulência sugerem que os tomateiros seriam a fonte dos isolados de *P. infestans* encontrados sobre batata nos campos amostrados. Por não ser uma região de produção comercial de batata, as epidemias de requeima nessa cultura foram causadas por isolados do grupo A1 provenientes de tomate. Nas demais regiões produtoras de batata do Brasil, predominam os isolados do grupo de compatibilidade A2, mesmo naquelas lavouras localizadas próximas a lavouras de tomate (Reis, 2001).

Face a variabilidade detectada no presente levantamento, programas de melhoramento de tomateiro visando resistência à requeima devem ser cuidadosamente estruturados. Constatou-se a ineficácia dos genes *Ph1* e *Ph2* em restringir o desenvolvimento de isolados de *P. infestans* da Zona da Mata de Minas Gerais. Portanto, os programas de melhoramento genético do tomate devem buscar a incorporação de resistência duradoura à requeima, além de outras doenças importantes da parte aérea. O uso de variedades com resistência horizontal poderá contribuir para diminuir o consumo de fungicidas por meio da diminuição do número de pulverizações e, ou, aumento dos intervalos entre estas.

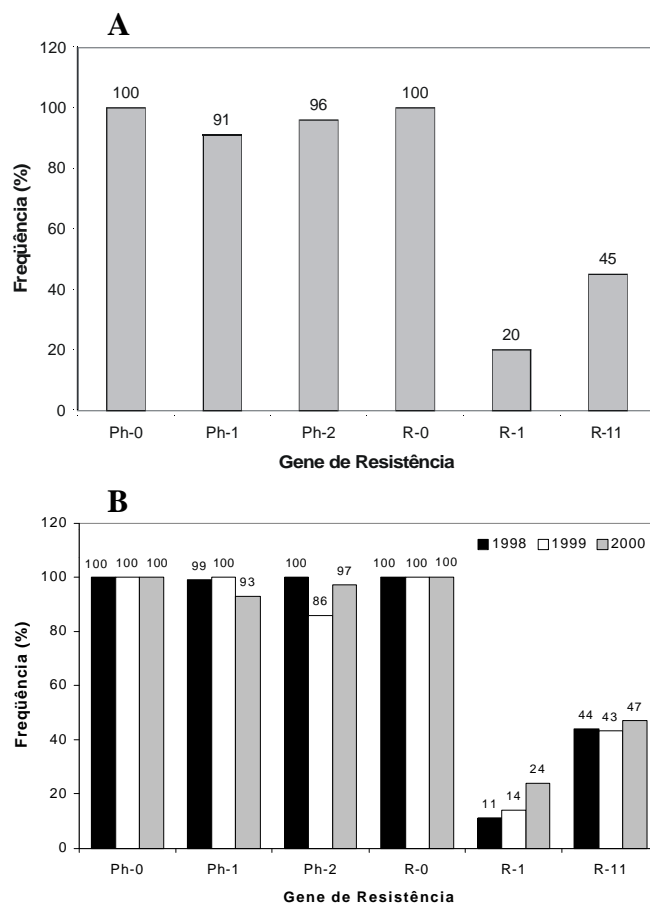


FIG. 2 - Frequência com que os genes de resistência foram suplantados por isolados de *Phytophthora infestans*, de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) e batata (*Solanum tuberosum*), da Zona da Mata de Minas Gerais: (A) média dos três anos e (B) nos diferentes anos. Valores acima das barras representam a frequência observada em cada caso.

Em resumo, a população de *P. infestans* na Zona da Mata de Minas Gerais apresenta alta uniformidade para grupo de compatibilidade (GC) e fenótipo da enzima *Gpi*, com provavelmente apenas uma linhagem clonal (US-1) e talvez alguns variantes dentro desta. Porém, há grande variação quanto à resistência ao metalaxyl e virulência.

AGRADECIMENTOS

FAPEMIG e CAPES pelo suporte financeiro deste trabalho. Aos técnicos da EMATER-MG pela ajuda na coleta dos isolados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BROMMONSCHENKEL, S.H. Patogenicidade, compatibilidade, citogenética e padrões isoenzimáticos de isolados de

- Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary do Brasil. (Tese de Mestrado). Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 1988.
- CASTRO, C. & SHAW, D.S. Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* do Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 17:165. 1992. (Resumo).
- CATEN, C.E. & JINKS, J.L. Spontaneous variability of single isolates of *Phytophthora infestans* I. Cultural variation. *Canadian Journal of Botany* 46:329-348. 1968.
- CICCARONE, A., BLACK, W. & BASTOS CRUZ, B.P. Observações preliminares sobre as raças de *Phytophthora infestans* no Estado de São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico* 26:177-184. 1959.
- DAY, J.P. & SHATTOCK, R.C. Aggressiveness and other factors relating to displacement of populations of *Phytophthora infestans* in England and Wales. *European Journal of Plant Pathology* 103:379-391. 1997.
- DRENTH, A., TAS, I.C.Q. & GOVERS, F. DNA fingerprinting uncovers a new sexually reproducing population of *Phytophthora infestans* in the Netherlands; significance and consequences. *European Journal of Plant Pathology* 100:97-107. 1994.
- ERWIN, D.C. & RIBEIRO, O.K. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS Press, St. Paul, MN. 1996.
- FRY, W.E. & GOODWIN, S.B. Re-emergence of potato and tomato late blight in the United States. *Plant Disease* 87:1349-1357. 1997.
- GAVINO, P.D., SMART, C.D., SANDROCK, R.W., MILLER, J.S., HAMM, P.B., LEE, T.Y., DAVIS, R.M. & FRY, W. E. Implications of sexual reproduction for *Phytophthora infestans* in the United States: Generation of an aggressive lineage. *Plant Disease* 84:731-735. 2000.
- GHINI, R. & KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. Jaguariúna. EMBRAPA. 2000.
- GISI, U. & COHEN, Y. Resistance to phenylamide fungicides: a case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure. *Annual Review of Phytopathology* 34:549-572. 1996.
- GOODWIN, S.B. The population genetics of *Phytophthora*. *Phytopathology* 87:462-473. 1997.
- GOODWIN, S.B., COHEN, B.A., DEHAL, K.L. & FRY, W.E. Migration from Northern Mexico as the probable cause of recent genetic changes in populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada. *Phytopathology* 84:553-558. 1994a.
- GOODWIN, S.B., COHEN, B.A. & FRY, W.E. Panglobal distribution of a single clonal lineage of the Irish potato famine fungus. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 91:11591-11595. 1994b.
- GOODWIN, S.B., SCHNEIDER, R.E. & FRY, W.E. Use of cellulose-acetate electrophoresis for rapid identification of allozyme genotypes of *Phytophthora infestans*. *Plant Disease* 79:1181-1185. 1995.
- GOODWIN, S.B., SMART, C.D., SANDROCK, R.W., DEAHL, K.L., PUNJA, Z.K. & FRY, W.E. Genetic change within populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada During 1994 to 1996: role of migration and recombination. *Phytopathology* 88:939-949. 1998.
- HERMANSEN, A., HANNUKKALA, A., NAERSTAD, R.H. & BRURBERG, M.B. Variation in populations of *Phytophthora infestans* in Finland and Norway: mating type, metalaxyl resistance and virulence phenotype. *Plant Pathology* 49:11-22. 2000.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Levantamento sistemático da produção agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro: IBGE. 2000.
- MCDONALD, B.A. & MCDERMOTT, J.M. Population genetics of plant pathogenic fungi. *Bioscience* 43:311-319. 1993.
- MATUSZAK, J.M., FERNANDEZ-ELQUEZABAL, J., GU, W.K., VILLARREAL-GONZALEZ, M. & FRY, W.E. Sensitivity of *Phytophthora infestans* populations to metalaxyl in Mexico: Distribution and dynamics. *Plant Disease* 78:911-916. 1994.
- MAZIERO, J.M.N. Influência da temperatura e do tempo de molhamento foliar nos componentes epidemiológicos de *Phytophthora infestans* e validação do simulador "Blight". (Tese de Mestrado). Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 2001.
- 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. (Eds.) Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Campinas. Livraria Editora Rural. 2001. pp.100-174.
- OYARZUN, P.J., POZO, A., ORDOÑEZ, M.E., DOUCETT, K. & FORBES, G.A. Host specificity of *Phytophthora infestans* on tomato and potato in Ecuador. *Phytopathology* 88:265-271. 1998.
- REIS, A. Caracterização das populações de *Phytophthora infestans* das regiões Sul e Sudeste do Brasil. (Tese de Doutorado). Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 2001.
- SOZZI, D., SCHWINN, F.J. & GISI, U. Determination of the sensitivity of *Phytophthora infestans* to phenylamides: a leaf disc method. *Bulletin OEPP* 22:306-309. 1992.
- SOZZI, D. & STAUB, T. Accuracy of methods to monitor sensitivity of *Phytophthora infestans* to phenylamide fungicides. *Plant Disease* 71:422-425. 1987.
- SUASSUNA, N.D., MAFFIA, L.A. & MIZUBUTI, E.S.G. Epidemiological components related to fitness contribute to the host specificity of *Phytophthora infestans* populations in Brazil. *Phytopathology* 91:S86. 2001. (Abstract)
- TERRIEN, C.D., TOOLEY, P.W., SPIELMAN, L.J., FRY, W.E., RITCH, D.L. & SHELLY, S.E. Nuclear DNA content, allozyme phenotypes and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* from Japan. *Mycological Research* 97:945-950. 1993.
- TOOLEY, P.W., SWEIGARD, J.A. & FRY, W.E. Fitness and virulence of *Phytophthora infestans* isolates from sexual and asexual populations. *Phytopathology* 76:1209-1212. 1986.
- TURKENSTEEN, L.J., FLIER, W.G., WANNINGEN, R. & MULDER, A. Production, survival and infectivity of oospores of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 49:688-696. 2000.