



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA

Dissertação de Mestrado

Sensibilidade de isolados de *Alternaria brassicicola* a ditiocarbamato, estrobilurina e triazol

Andreza Verônica de Souza Silva

**Recife – PE
2022**

ANDREZA VERÔNICA DE SOUZA SILVA

**Sensibilidade de isolados de *Alternaria brassicicola* a
ditiocarbamato, estrobilurina e triazol**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador(a): Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara

Coorientador(a): Willie Anderson dos Santos Vieira

**RECIFE-PE
FEV - 2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586s

Silva, Andreza Verônica de Souza

Sensibilidade de isolados de *Alternaria brassicicola* a ditiocarbamato, estrobilurina e triazol / Andreza Verônica de Souza Silva. - 2022.
47 f.

Orientador: Marcos Paz Saraiva Camara.

Coorientador: Willie Anderson dos Santos Vieira.

Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, 2022.

1. Alternariose. 2. Brassica oleracea. 3. brássicas. 4. fungicidas. I. Camara, Marcos Paz Saraiva, orient. II. Vieira, Willie Anderson dos Santos, coorient. III. Título

CDD 632

**Sensibilidade de isolados de *Alternaria brassicicola* a
ditiocarbamato, estrobilurina e triazol**

Andreza Verônica de Souza Silva

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 23/02/2022

ORIENTADOR(A):

Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE)

EXAMINADORES:

Prof. Dr. André Angelo Medeiros Gomes (UFRPE)

Dr^a. Josiene Silva Veloso (UFRPE)

RECIFE-PE
Fevereiro – 2022

*“Seja forte e corajoso! Não tenha medo nem
desanime, pois o Senhor, seu Deus, estará
com você por onde você andar”*

Josué 1.9

*Aos meus primeiros e grandes apoiadores,
meus pais Maria e Expedito
e a todos os familiares e amigos.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser meu porto seguro.

Aos meus pais, irmãos e familiares por todo o apoio imensurável.

Ao meu amado companheiro Gilmar, por todo amor e carinho.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco por sediar o Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia.

Aos professores do PPGF em Fitopatologia, por todos os conhecimentos adquiridos ao longo do mestrado.

Ao professor Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara por todos os ensinamentos repassados, e pela oportunidade de ser sua orientada.

Ao Pós Doutorando Willie Vieira, por todos os ensinamentos teóricos e práticos para a elaboração e execução deste trabalho.

Aos funcionários do PPGF, Romildo por sanar todas as dúvidas. A Mirleide e Glaucia por todas as palavras em momentos difíceis.

Ao laboratório de Micologia por toda a estadia e disponibilidade de equipamentos e infraestrutura. E aos colegas de laboratório Gabriele, Ingrid, Athaise, Anthony por todos os momentos de trabalho.

Aos meus colegas do LIAFT, Tatiane, Ana Flavia, Thais, Walisson, Dionísio, Bruno, Roselane, Carlos, Pedro, David, Marcelo, Larissa e Rodolfo, por todo o companheirismo e aprendizado.

Aos queridos professores Jandiê, Arnoldo, Vivian, Dora e Rafael que me auxiliaram em minha estadia e adaptação em Recife. Aos pastores Fredson e Pastora Veronica por todas as palavras de conforto e carinho, além de todos os irmãos da igreja.

A Dina e família, por todo o apoio e carinho.

A Edinalda e Jemima por serem companheiras ao longo dessa jornada, por toda a paciência e horas de conversa.

A Talia, Jaqueline e Irlan pela amizade e me apoiarem mesmo a distância.

A Rayra e Gienah por não me deixarem desanimar e me impulsionarem a prosseguir.

E a todos que não citei, meu MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	7
GENERAL ABSTRACT	8
Capítulo I.....	9
Introdução Geral	10
1.Brássicas e Importância Econômica	10
2.A mancha de Alternária.....	12
3.Medidas Gerais de Controle da Alternariose	13
4.Controle químico	14
5.Resistência a fungicidas	17
Capítulo II	25
Resumo	27
Introdução	28
Materiais e Métodos	29
Resultados.....	33
Discussão	35
Agradecimentos	37
Referencias Bibliograficas.....	37
Capítulo III.....	46
Conclusões Gerais	47

RESUMO GERAL

A Mancha de *Alternaria* é uma das doenças predominante na cultura das brássicas, provocada por várias espécies de *Alternaria*, sendo a *A. brassicicola* a espécie presente nos cultivos de couve no Brasil. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade *in vitro* e *in vivo* de *A. brassicicola* a ditiocarbamato (mancozebe), estrobilurina (azoxistrobina) e triazol (difeconazole), bem como os componentes de adaptabilidade deles. Um total de trinta isolados de *A. brassicicola* provenientes de áreas produtoras do Brasil foram utilizados para a obtenção da sensibilidade *in vitro*. A sensibilidade *in vitro* dos isolados foi avaliada, a partir da estimativa da concentração capaz de inibir 50% do crescimento micelial (CE_{50}). Seis isolados foram classificados em sensíveis com CE_{50} variando de 153,5 a 383,3 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para mancozebe, de 6,5 a 9,4 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para azoxistrobina e de 3,6 a 5,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para difeconazole, e seis isolados em não sensíveis com CE_{50} para mancozebe acima de 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, para azoxistrobina $>10,2$ $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e difeconazole $>5,1$ $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Doze isolados foram utilizados nos ensaios de sensibilidade *in vivo*, e foi avaliada através diâmetro da lesão das plantas de couve utilizando doses comerciais de mancozebe, azoxistrobina e difeconazole. Os doze isolados selecionados no teste *in vitro* em sensíveis e não sensíveis foram comparados quanto ao crescimento micelial, a produção de conídios, a germinação de conídios e a virulência. A maioria dos isolados testados *in vitro* foram sensíveis aos fungicidas. Todas as plantas não tratadas com fungicidas e inoculadas com os isolados sensíveis apresentaram sintomas típicos da Alternariose. O percentual de inibição de crescimento micelial variou entre os isolados sensíveis e não sensíveis de *A. brassicicola*. Observa-se diferença entre os fungicidas, como o difeconazole, que apresentou 80,85% de inibição do diâmetro da lesão para isolados sensíveis e 87,14% para isolados não sensíveis. Houve diferença estatística na taxa de crescimento micelial para o princípio ativo mancozebe, na produção de conídios e virulência para azoxistrobina. Os resultados indicam a presença de indivíduos sensíveis e não sensíveis nas áreas produtoras, com boas características de adaptabilidade, mostrando a necessidade de adoção de medidas de controle mais eficientes e estratégicas para o monitoramento de populações não sensíveis.

Palavras-chaves: Alternariose, *Brassica oleracea*, brássicas, fungicidas.

GENERAL ABSTRACT

Alternaria leaf spot is one of the predominant diseases in brassica crops, caused by several species of *Alternaria*, with *A. brassicicola* being the species present in cabbage crops in Brazil. The present work aimed to evaluate the in vitro and in vivo sensitivity of *A. brassicicola* to dithiocarbamate (mancozeb), strobilurin (azoxystrobin) and triazole (difeconazole), as well as their adaptability components. A total of thirty *A. brassicicola* isolates from producing areas in Brazil were used to obtain in vitro sensitivity. The in vitro sensitivity of the isolates was evaluated by estimating the concentration capable of inhibiting 50% of mycelial growth (EC50). Six isolates were classified as sensitive with EC50 ranging from 153.5 to 383.3 µg.mL⁻¹ for mancozeb, from 6.5 to 9.4 µg.mL⁻¹ for azoxystrobin and from 3.6 to 5.0 µg.mL⁻¹ for difeconazole, and six isolates in non-susceptible strains with EC50 for mancozeb above 500 µg.mL⁻¹, for azoxystrobin >10.2 µg.mL⁻¹ and difeconazole >5.1 µg.mL⁻¹. Twelve isolates were used in the in vivo susceptibility assays, and the lesion diameter of cabbage plants was evaluated using commercial doses of mancozeb, azoxystrobin and difeconazole. The twelve isolates selected in the in vitro test in sensitive and non-sensitive were compared in terms of mycelial growth, conidia production, conidia germination and virulence. Most isolates tested in vitro were sensitive to fungicides. All plants not treated with fungicides and inoculated with susceptible isolates showed typical symptoms of Alternariose. The percentage of inhibition of mycelial growth varied between sensitive and non-sensitive isolates of *A. brassicicola*. There is a difference between fungicides, such as difeconazole, which showed 80.85% inhibition of lesion diameter for sensitive isolates and 87.14% for non-sensitive isolates. There was a statistical difference in the mycelial growth rate for the active ingredient mancozeb, in the production of conidia and virulence for azoxystrobin. The results indicate the presence of sensitive and non-sensitive individuals in producing areas, with good adaptability characteristics, showing the need to adopt more efficient and strategic control measures for monitoring non-sensitive populations.

Keywords: Alternariose, *Brassica oleracea*, brassicas, fungicides

CAPÍTULO I

Introdução Geral

INTRODUÇÃO GERAL

1. Brássicas e Importância Econômica

A família Brassicaceae (Divisão Magnoliophyta, Classe Magnoliopsida) compreende o maior número de culturas oleráceas de grande importância econômica, que se distribuem entre hortaliças, herbáceas e tuberosas, compondo-se de várias espécies vegetais distintas (ARAÚJO, 2019). As brássicas são encontradas na maior parte do mundo, principalmente na região temperada do hemisfério norte e nos países ao redor da bacia do Mediterrâneo e no Sudoeste e centro da Ásia (WARWICK, 2011; ZYLA; FIDLER; BABULA-SKOWRONSKA, 2021). Esta família tem 372 gêneros vegetais, e 15.710 espécies classificadas (THE PLANT LIST, 2022).

A família Brassicaceae pode ser identificada através do androceu. Esta estrutura, frequentemente apresenta seis estames tetradínamos, podendo ou não ser numerosos. A inflorescência, na maioria das espécies, é constituída por flores pedunculadas e perianto tetrâmero, ou seja, cálice e corola com quatro peças dispostas em forma de cruz, o que justifica o nome antigo da família (Cruciferae). O fruto é do tipo siliqua, deiscentes ou aquênios (MOREIRA; BRAGANÇA, 2011).

A produção mundial de brássicas em 2017 foi de aproximadamente 97,4 milhões de toneladas, sendo China e Índia os maiores produtores mundiais (FAO, 2019). O Brasil nesse mesmo período produziu 82,6 mil toneladas (HORTIFRUTI, 2019). No ano de 2017 as brássicas como brócolis, couve, couve-flor e repolho, obtiveram produção significativa, entre elas o repolho com 467.622 toneladas em São Paulo, seguido por couve com 161.986 t, e couve-flor em uma colheita de 140.067 t, levando ainda em consideração a produção de brócolis no Rio Grande do Sul com 150.017 t (IBGE, 2017).

As brássicas apresentam níveis elevados de proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, ferro, vitamina A, niacina (vitamina B3) e vitamina C quando comparado com outras hortaliças folhosas (MAYNARD; HOCHMUTH, 2007). Além disso, possuem uma excelente fonte de carotenoides, componentes com propriedades importantes para a saúde humana (LEFSRUD et al., 2007). Devido a suas propriedades nutracêuticas o consumo de brássicas tem aumentado no Brasil (NOVO et al., 2010).

Dentre as principais variedades relevantes na economia do Brasil, estão a couve-manteiga, a couve-flor, o repolho e o brócolis (DIXON, 2007).

A couve-manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) está entre os principais vegetais

cultivados em todo mundo (RIGUEIRA et al., 2016). Sua produção e consumo tem aumentado devido as suas propriedades nutricionais e medicinais, além de ser fonte de vitaminas A, C e niacina, proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, ferro e iodo (TRANI et al., 2015).

O brócolis (*Brassica oleracea* var. *italica*) também obteve um potencial aumento no consumo e crescimento no agronegócio, a razão é a utilização na culinária, suas propriedades nutricionais que trazem benefícios a saúde (SOUZA et al., 2022), é fonte de cálcio, ferro, fósforo, fibras e vitaminas A e C (SILVA; CHALCO, 2017).

De acordo com IBGE (2017), o maior produtor de couve-flor foi Tuiuti – SP com 36.338 toneladas produzidas. A couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) possui importância econômica entre as brássicas por sua inflorescência imatura comercializável, principalmente para agricultura familiar por ser uma cultura comum e bastante lucrativa para mão de obra (OLIVEIRA et al., 2018). Assim como o brócolis é uma hortaliça rica em cálcio e fósforo, além de fonte de folato e vitamina C (SILVA; CHALCO, 2017).

No Brasil, o repolho é uma cultura de fácil produção e conservação pós-colheita, sendo a espécie mais importante no grupo das brássicas (ALVES et al., 2021). O repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) é uma hortaliça nutritiva rica em cálcio e vitamina C (PERIN et al., 2015), conhecida por suas várias camadas de folhas arredondadas de cheiro característico sobrepostas que formam uma cabeça, a qual é a parte comestível (MOREIRA; VIDIGAL, 2015). Segundo Fontes e Nick (2019), o setor de maior importância na produção hortícola se concentra nas regiões Sul e Sudeste. Dentre as hortaliças, a produção do cultivo de repolho está entre as maiores no Brasil com aproximadamente 467 mil toneladas (IBGE, 2017).

A maioria das áreas de cultivos dessa família derivam da propagação vegetativa, que é um fator influenciador para o crescimento das doenças de plantas, levando isto em consideração, algumas empresas produtoras de sementes têm procurado desenvolver materiais híbridos, entretanto, muitas vezes, essas cultivares não apresentam as características exigidas pelo consumidor, como tamanho, coloração, sabor e crocância. Apesar da grande adaptação às condições edafoclimáticas, as brássicas, apresentam uma baixa produtividade, atribuídas, dentre outros fatores, à ocorrência de doenças (FILGUEIRA, 2013; MOREIRA, 2008; IPA/CEAGEPE/EMATER-PE, 1997).

Destacam-se como as principais doenças das brássicas: a hérnia-das-crucíferas (*Plasmodiophora brassicae*); a podridão-negra (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*); a podridão-mole (*Pectobacterium carotovorum*); o nematoide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.), e a alternariose (*Alternaria brassicicola* (Schwein.) Wiltshire, *A. brassicae* e *A. alternata*), caracterizados como agentes que provocam diferentes sintomas que promovem perdas

significativas na produtividade, através da redução na fotossíntese e pelo apodrecimento dos tecidos das plantas (MARINGONI, 2005; FILGUEIRA, 2013; REIS, 2010).

2. A mancha de alternaria

A mancha-de-alternaria ou alternariose, causada por espécies de *Alternaria*, é considerada a doença fúngica mais comum e com alto potencial destrutivo nas brássicas (MARINGONI, 2005; MEHTA et al., 2005). Essa doença pode aumentar a redução prematura da área foliar, a queda de vigor das plantas, danos nas folhas e caule, bem como a redução do ciclo e do potencial de produção das brássicas (TOFOLI et al., 2015).

A alternariose é favorecida por temperaturas elevadas entre 23 à 30 °C e alta umidade relativa. Para que ocorra a infecção há necessidade de, pelo menos, nove horas de molhamento foliar. A disseminação dos agentes causais pode ocorrer através de sementes infectadas, mudas doentes e pelo vento. Esses ainda podem sobreviver em restos culturais, em hospedeiras alternativas e plantas voluntárias (PERUCH et al., 2006).

Os sintomas aparecem entre dois e 15 dias após a infecção, dependendo da susceptibilidade do hospedeiro e das condições ambientais (SAHARAN et al, 2005). Na Inglaterra, as maiores capturas de conídios de *A. brassicicola* ocorrem após um período de chuva ou de molhamento foliar prolongado, com duração superior a 3 horas e temperatura acima de 13° C (ROTEM, 1994).

A germinação dos conídios é favorecida pela umidade, que varia de 40 a 95%, geralmente provocada pelas chuvas, irrigação e orvalho. Essa presença de água na superfície foliar contribui no desenvolvimento do tubo germinativo, infecção e produção de conídios do fungo. A produção de conídios ocorre em temperaturas variando de 14 a 26°C (TOFOLI et al., 2015).

Esse patógeno pode sobreviver em diversas plantas hospedeiras, no solo, máquinas e implementos agrícolas, materiais propagativos e ferramentas utilizadas no manejo de diversos cultivos (AGRIOS, 2005). Geralmente, os conídios deste gênero possuem alta resistência em níveis de umidade baixos, indicando a viabilidade prolongada destes conídios (TOFOLI et al., 2015).

A disseminação destes conídios ocorre através da água, ventos, insetos, equipamentos, pessoas, e animais que entraram em contato com materiais contendo estruturas do fungo. Estes conídios infectam e penetram rapidamente na superfície foliar, após essa fase, os fungos colonizam intercelularmente o hospedeiro provocando as alterações nos processos fisiológicos,

e causando o aparecimento de sintomas (TOFOLI et al., 2015).

Os fungos *Alternaria brassicae*, *A. brassicicola*, *A. raphani*, *A. alternata*, *A. brassicifolli* e *A. broccoli-italicae* são comumente encontrados no cultivo de brássicas. *Alternaria brassicae* induzem sintomas em forma de lesões arredondadas de coloração marrom, com formação de zonas ou anéis concêntricos (TOFOLI et al., 2015). Em infecções mais severas, as lesões coalescem e as folhas amarelam e secam. Ao passo que as infecções primárias causadas por *A. brassicae* são menos invasivas, enquanto as infecções secundárias podem ser ocasionadas por *A. brassicicola* (RAJARAMMOHAN, 2019). *A. brassicicola*, causa necroses nos cotilédones durante fase de produção de mudas, e como consequência ocorrer a queda de vigor e tombamento (“damping-off”) generalizado de mudas. Em plantas adultas os sintomas são caracterizados por lesões circulares ou ovaladas, com tamanho variável, sendo essas facilmente identificadas pela presença de anéis concêntricos e halos amarelados ao redor das mesmas. Ataques severos podem ocasionar intensa desfolha e lesões necróticas no caule e nas inflorescências, em ambas alternarias (TOFOLI et al., 2015).

3. Medidas gerais de controle da alternariose

O manejo integrado de doenças consiste na utilização de táticas disponíveis para manter a população de patógenos abaixo do nível de dano econômico, possibilitando, minimizar os efeitos deletérios ao meio ambiente (AMORIM et al., 2011). Dentre as estratégias de manejo utilizadas, destaca-se a eliminação dos restos culturais infectados após a colheita das plantas, rotação de culturas durante dois a três anos com plantas não hospedeiras, sementes saudáveis e o controle químico (MARINGONI, 2005; VERMA; SAHARAN, 1994; MARINGONI, 2005; KOIKE; GLADDERS; PAULUS, 2006).

A utilização de cultivares resistentes é considerada uma das melhores alternativas no controle de doenças de plantas, uma vez que proporciona facilidade de emprego, economicidade e menor impacto ambiental. No entanto, todas as cultivares comerciais de brássicas são essencialmente suscetíveis ao patógeno (RODRIGUES et al., 2004; SAHARAN; MEHTA; SANGWAN, 2005; DIXON, 2007; TEWARI, 2007).

No sistema de produção convencional, o controle da alternariose baseia-se, principalmente, em pulverizações de fungicidas, sejam elas preventivas ou após o aparecimento dos primeiros sintomas (STUART et al., 2017). Entretanto, existem relatos da crescente detecção de isolados de *A. brassicicola* resistentes a vários grupos de fungicidas em decorrência do uso intensivo de fungicidas (HUANG; LEVY, 1995). Além disso, o uso intensivo de

agroquímicos para o controle de doenças em culturas de importância econômica tem promovido diversos problemas ambientais, tais como: contaminação da água, alimentos, solo e, intoxicação dos homens e animais (MORANDI; BETTIOL, 2009), sendo necessária a adoção de práticas integradas de manejo para o controle efetivo da doença. Dentre as alternativas existentes para reduzir o uso de agroquímicos no manejo de doenças, o controle biológico é um dos mais estudados (MORANDI; BETTIOL, 2009).

No Brasil, o controle químico tem sido realizado principalmente com fungicidas à base de tebuconazol, difeconazole, iprodione, e algumas estrobilurinas como azoxistrobina, trifloxistrobina e piraclostrobina (NOSSLLALA, 2016). Em alguns estados do País, o controle da alternariose baseia-se em pulverizações preventivas ou após o aparecimento dos primeiros sintomas, com fungicidas a base de clorotalonil, mancozebe ou oxicloreto de cobre (STUART et al., 2017).

5. Controle Químico

A aplicação de fungicidas na parte aérea visa prevenir a infecção do hospedeiro ou paralisar a colonização que já tenha se estabelecido e, além destes, visa à redução de fontes de inóculo. O controle deve levar em conta todos os patossistemas na cultura além do estágio fenológico da cultura afetada, os danos causados pelo agente causal, o custo da aplicação do controle químico e o espectro de ação do fungicida (REIS; REIS; CARMONA, 2010).

Os fungicidas são classificados quanto a mobilidade, função, espectro de ação, natureza química e modo de ação. Quanto a mobilidade nas plantas, são de contato, conhecidos como protetores, quando permanecem na superfície foliar das plantas. E sistêmicos ou penetrantes quando absorvidos pelas folhas (ZAMBOLIM; VENANCIO; OLIVEIRA, 2007).

Quanto a função, podem ser preventivos, quando atuam por contato nas folhas, como os fungicidas de contato, e podem ser curativos, quando possuem a capacidade de penetrar nas plantas, afetando as estruturas do fungo mesmo após a infecção, como os fungicidas sistêmicos, que possuem as duas funções tanto preventiva, como a curativa (FRAC, 2016).

Quanto ao espectro de ação, podem atuar como inibidores de vários processos metabólicos vitais (multisítios), ou ter ação específica sobre a célula fúngica (sítio específico) (BESTOR; ROBERTSON; MUELLER, 2011; FRAC, 2016). Estes processos incluem a inibição da biossíntese de esteróis, síntese de ácidos nucleicos, inibição da mitose e divisão celular, inibição da síntese de proteínas e aminoácidos, e inibição da respiração (ZAMBOLIM; VENANCIO; OLIVEIRA, 2007).

Os fungicidas que apresentam interferência generalizada nas funções celulares ou atividade multisítio, provocam ação múltipla dos compostos em diferentes grupos enzimáticos e metabólitos vitais. Os fungicidas mais comumente utilizados são mancozebe (ditiocarbamatos), clorotalonil (cloronitrilas), cúpricos e sulfurados. São classificados como baixo risco para desenvolvimento de resistência, devido aos múltiplos sítios de atuação (FRAC, 2016; RODRIGUES, 2006).

Quanto à natureza química apresentam-se como inorgânicos, quando não possuem moléculas de carbono, como o cobre, e o enxofre. E orgânicos, quando possuem moléculas de carbono em sua estrutura (BESTOR; ROBERTSON; MUELLER, 2011).

Quanto ao modo de ação os fungicidas classificam-se em protetores (ação) de contato); de contato (ação erradicante); sistêmicos (ação sistêmica e erradicante) e penetrante (ação de profundidade). No Brasil, utiliza-se para o controle da alternariose, fungicidas com os seguintes princípios ativos: mancozebe (grupo dos ditiocarbamatos), azoxistrobina (estrobilurinas); difeconazole (triazóis), fluxapiroxade (carboxamida), sendo estes também registrados para o controle do gênero *Alternaria* em diversas culturas (MAPA, 2008).

Os ditiocarbamatos, fungicidas de contato multisítios, possuem amplo espectro de ação, interferindo em vários sítios metabólicos do fungo. São efetivos quando aplicados de forma preventiva, antes da penetração do patógeno no hospedeiro, reduzindo a ocorrência da doença. Quando aplicados sob a superfície foliar atuam como barreira, impedindo a germinação dos conídios e do tubo germinativo. Os fungicidas pertencentes aos ditiocarbamatos, ao entrar em contato com o fungo, promovem alterações no processo enzimático dos fungos, afetando em seis locais da célula, núcleo, retículo endoplasmático liso e rugoso, membrana plasmática, mitocôndria e ribossomos (GULLINO, 2010). O princípio ativo mancozebe inativa os grupos de sulfídricos de aminoácidos e enzimas na célula do fungo, provocando a desorganização na respiração, produção de adenosinas trifosfato e no metabolismo de lipídios do patógeno. Os principais fungicidas são o mancozebe, o propinebe, o thiram (EHR; KEMMITT, 2002; REIS; REIS; CARMONA, 2010; TOFOLI, 2011).

As estrobilurinas atuam na inibição da respiração mitocondrial, agindo sobre a quinona oxidase (Inibidores da Quinona oxidase-QoIs). Esses fungicidas bloqueiam a transferência de elétron entre o citocromo *b* e *c* se ligando ao sítio da quinona oxidase pertencente ao complexo enzimático da mitocôndria *bc*, componente da cadeia transportadora de elétrons. Os ingredientes ativos do grupo químico estrobilurina mais comuns são a azoxistrobina, cresoxim metílico, picoxistrobina, piraclostrobina e trifloxistrobina (FRAC, 2016; PEREIRA; NEVES; ZAMBOLIM, 2009; REIS; REIS; CARMONA, 2010).

Os triazóis, fungicidas sistêmicos, possuem ampla utilização na agricultura, com atuação na inibição da biossíntese do ergosterol na membrana celular. Com a aplicação de fungicidas pertencentes a este grupo, há uma redução ou interrupção na disponibilidade de ergosterol na membrana celular, ocasionando o rompimento da membrana e extravasamento de solutos iônicos (ZAMBOLIM; VENANCIO; OLIVEIRA, 2007). Possuem função preventiva, quando aplicados na superfície foliar entram em contato com os conídios e função curativa quando atuam na inibição do crescimento micelial (PEREIRA et al., 2009).

A desmetilação do Ergosterol ocorre quando é realizada a ligação do fungicida ao sítio alvo, na posição C-14, onde é catalisada pelo citocromo P-450 (enzima esterol-C-14 demetilase). O processo biossintético de formação de esteróis continua, porém em vez de se formar ergosterol e outros esteróis demetilados, formam-se compostos metilados. Os esteróis metilados cumprem algumas funções na constituição das membranas, mas não conseguem executar outras funções específicas, o que leva a um desequilíbrio entre os lipídios das membranas, com inibição de fosfolipídios e acúmulo de ácidos graxos livres, que chegam a ser níveis tóxicos para os fungos. A falta de ações específicas dos esteróis demetilados, mais o desequilíbrio lipídico, levam os fungos à morte (ZAMBOLIM; VENANCIO; OLIVEIRA, 2007).

Os ingredientes ativos do grupo químico triazol mais comuns são os difeconazole, propiconazol, protioconazol, tebuconazol e ciproconazol (FRAC, 2016; REIS; REIS; CARMONA, 2010; WISE et al., 2009).

As carboxamidas são inibidores da succinato desidrogenase – SDHs, e atuam diretamente na inibição da respiração do fungo. Estes fungicidas possuem ação específica na infecção, inibindo a formação do tubo germinativo, a produção de conídios, e a germinação, na formação de apressórios, e impedindo o crescimento micelial do fungo. Essas características lhe conferem ação sistêmica e protetora (TOFOLI, 2011). Alguns ingredientes ativos que pertencem a este grupo são fluxapiraxade, boscalida e fluopiram (FRAC, 2016).

Para a Mancha de *Alternaria*, o controle químico tem sido a medida mais viável e mais rápida, entretanto, os insucessos no controle químico são atribuídos ao fato da perda de sensibilidade do fungo, pois esse controle é empregado em grande escala e em diferentes condições edafoclimáticas. Existem inúmeras causas que podem estar relacionadas a este insucesso do controle a campo, como por exemplo, a diagnose incorreta do agente causal, o local de plantio, o clima favorável ao aparecimento de doenças, a espécie da planta, a aplicação de fungicidas inadequada (PEREIRA et al., 2009).

6. Resistência a Fungicidas

A resistência a fungicidas é uma característica herdável e estável, resultando em uma seleção de mutações nas populações dos fungos (FRAC, 2016). Este conceito é utilizado para as populações de fungos, que por meio de mecanismos bioquímicos e moleculares, sofreram mutações genéticas que reduzem a sensibilidade aos fungicidas (PEREIRA et al, 2009). A resistência no patógeno, pode afetar a eficiência de uma determinada dose de fungicida, que antes controlava a doença (FRAC, 2016).

A resistência aos fungicidas surge em sua grande maioria, quando os fungicidas sistêmicos são utilizados constantemente nas áreas de cultivo, provocando o aumento da pressão de seleção nas populações de fungos. Para os fungicidas protetores ou de contato, essa ocorrência de resistência é rara (PEREIRA et al., 2009). Uma outra característica dos fungicidas sistêmicos em relação a resistência é que eles podem causar fitotoxidez nas plantas, quando aplicados em doses elevadas. Por isso, o número de aplicações destes fungicidas são baixas, sendo essa uma estratégia anti-resistência (GHINI; KIMATI, 2000).

Dentre os mecanismos envolvidos na resistência, o principal refere-se as modificações que ocorrem no sítio de ação do produto, reduzindo a afinidade do fungicida. Ainda podem estar associados a rotas metabólicas alternativas ao sítio de ação, na redução da absorção ou no aumento do efluxo do fungicida, a conversão do produto ao ingrediente ativo, a produção da enzima alvo do fungicida e a detoxificação do produto (BRENT, 1995; GHINI; KIMATI, 2000). Os mecanismos de resistência podem variar nos diferentes grupos químicos de fungicidas existentes para cada tipo de organismo, ocasionando populações resistentes aos fungicidas (BRENT; HOLLOMON, 2007).

A resistência aos fungicidas está dividida em resistência cruzada, múltipla, qualitativa ou oligogênica e, quantitativa ou multigênica. A resistência cruzada ocorre quando um patógeno possui resistência de dois ou mais fungicidas, que possuam o mesmo mecanismo de ação. A resistência múltipla ocorre quando os fatores genéticos conferem resistência a dois ou mais fungicidas com mecanismos de ação diferentes. A resistência qualitativa ocorre quando fungicidas de sítio específico são aplicados constantemente a campo, implicando na ocorrência de um ou poucos genes dominantes na população. E a resistência quantitativa acontece quando um conjunto de genes perdem sensibilidade aos fungicidas (GHINI; KIMATI, 2000).

A resistência em genes específicos pode ser pré-existent em algumas células na população fúngica, antes mesmo da aplicação de fungicidas. A presença da resistência nesses isolados permite que eles se desenvolvam e sejam menos afetados pelo fungicida (BRENT, 1995; BRENT; HOLLOMON, 2007; CAPOTE et al., 2013; MA; FELTS; MICHAILIDES,

2003). Quanto maior for a afinidade do fungicida com o gene do patógeno, maior será a sensibilidade do organismo (ISHII, 2004).

Dentre as características que tornam os fungos propícios a resistência, estão a capacidade de produção de conídios, disseminação e sobrevivência. Essas características afetam nas gerações futuras do fungo, tornando-os capaz de produzirem conídios, sobreviverem e se adaptarem a ambientes diversos. Outra característica importante é o tipo de reprodução do patógeno, sexuada ou assexuada. Na reprodução sexuada os fungos apresentam maior variabilidade genética, e com isso, se adaptam com maior facilidade às diferentes condições edafoclimáticas (PEREIRA et al., 2009).

A adaptabilidade de um alelo mutante depende dos genes que sofreram mutação para resistência. O surgimento de problemas de resistência depende, em grande parte, da pressão de seleção exercida pela inadequada aplicação de fungicidas. Reduções de dose, utilização continuada de poucos ingredientes ativos em áreas extensas, ou inadequada cobertura do dossel das plantas, são possíveis causas do surgimento de isolados mutantes (FORCELINI et al., 2001).

Com o aumento da pressão de seleção nas populações fúngicas no decorrer dos anos, houve um acréscimo considerável de fungos resistentes a diferentes fungicidas, e para evitar o surgimento de patógenos resistentes, é recomendado o uso de estratégias anti-resistência (GHINI; KIMATI, 2000). As estratégias anti-resistência consistem em não utilizar os fungicidas com mecanismos de ação de sítio específico de forma isolada e constante no cultivo, reduzir o número de aplicações do fungicida sistêmico em cada período de produção, realizar o uso alternado de fungicidas com diferentes modos de ação, aplicar a dose comercial recomendada, evitar o uso de fungicidas de sítio específico como erradicantes, realizar o monitoramento de produção e aplicar o manejo integrado de doenças (PEREIRA et al., 2009).

O conhecimento do comportamento de cada grupo químico é fundamental para o estabelecimento de estratégias anti-resistência, uma vez que cada um dele caracteriza-se por um modelo típico de desenvolvimento de resistência. A redução da eficiência do controle químico observada em campo pode estar associada à predominância de populações de *A. brassicicola* que apresentam menor sensibilidade aos fungicidas atualmente registrados no Brasil (GHINI; KIMATI, 2000).

A ocorrência de resistência é comprovada com base em estudos, sobre os mecanismos moleculares de resistência que se associam aos fungicidas. Alguns relatos já descrevem que para o grupo químico das estrobilurinas, há a presença de mutações pontuais no gene *cyt b*, e que podem acontecer até onze mutações e atuarem isoladas ou combinadas. A mutação nos

códons 143 (G143A), 129 (F129L) e 137 (G137R) conferem resistência a fungicidas a base de estrobilurinas (OLIVEIRA et al., 2015). Para o grupo dos triazóis, inibidores da desmetilação, foi confirmada a presença de seis mutações no gene da enzima *cyp51* (citocromo P450 1,4 α -desmetilase), atuando nos códons 120 (F120L), 131 (Y131F/H), 142 (K142R), 145 (I145F) e 475 (I475T) (SCHMITZ et al., 2014). Não há registros de resistência para mancozebe, e ele é utilizado associado a outros fungicidas, por ser um fungicida multisítio e ter ação protetora (MONTEIRO et al., 2019).

Os princípios ativos, mancozebe, azoxistrobina e difeconazole são aplicados em cultivos brasileiros de brássicas para controlar a Alternariose. Este trabalho teve como hipóteses, i) a sensibilidade dos isolados variam nos fungicidas mancozebe, azoxistrobina e difeconazole e ii) a ocorrência de isolados sensíveis e não sensíveis a campo. Os objetivos do presente estudo foram: i) Avaliar a sensibilidade de isolados de *Alternaria brassicicola* a diferentes princípios ativos, ii) Determinar as concentrações efetivas de mancozebe, azoxistrobina e difeconazole para a inibição de 50% (CE50) do crescimento micelial de isolados de *A. brassicicola*. iii) Testar *in vivo* a sensibilidade de isolados de *A. brassicicola* aos diferentes princípios ativos. iv) Determinar a distribuição de isolados de *A. brassicicola* resistentes aos princípios ativos, v) Confirmar a ocorrência de resistência prática de isolados de *A. brassicicola* aos princípios ativos mancozebe, azoxistrobina e difeconazole.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, George N. **Plant pathology**. Elsevier, 2005.

ALEXANDER, H. M.; ANTONOVICS, J.; KELLY, A. W. Variação genotípica em resistência a doenças de plantas - resistência fisiológica em relação à transmissão de doenças de campo. **Journal of Ecology**, p. 325-333, 1993.

ALVES, A. U.; NETO, J. G. A.; CARDOSO, E. A.; GOMES, M. C. Produção de repolho sob influência de boro. **Nativa, Sinop**, v. 9, n. 2, p. 142-146, mar./abr. 2021.

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia** Volume 1—Princípios e Conceitos. 2011.

ARAUJO, R. G. V. Potencial de bactérias endofíticas para promoção de crescimento em couve da folha (Brassica Oleracea Var. Acephala). 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Alagoas.

AZEVÊDO, S. S.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Levantamento da intensidade da podridão negra e da alternariose do repolho no agreste de Pernambuco e determinação do tamanho das amostras para quantificação dessas doenças. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 299-306, 2000.

BESTOR, N. R. C.; ROBERTSON, A. E.; MUELLER, D. S. Effect of foliar fungicides on late-season anthracnose stem blight on soybean. **Plant Health Research**, v. 15, n. 3, p. 118-121, 2011.

BRENT, K. J. Resistência a fungicidas em patógenos de plantas cultivadas: como manejá-la. **Brussels-Belgium: GPCF (FRAC Monograph No. 1)**, 1995.

BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed (FRAC Monograph No. 1). **Fungicide Resistance Action Committee, Brussels, Belgium**, 2007.

CAPOTE, M. H. **Caracterización de hongos asociados a la pudrición seca de minitubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) y evaluación de alternativas de control**. 2013. Tese de Doutorado. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.

DIXON, G. R. Vegetable *brassicas* and related *crucifers*. **Wallingford: CABI**, 2007. 327p.

EHR, R. J.; KEMMITT, G. **Periodic table of the fungicides**. Indianapolis: Dow Agrosciences, 2000.

FAO. **Statistical databases Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Roma, 2019. Disponível em:

[https://www.scrip.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjt55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1880295&utm_campaign=8504943975_107931897105&utm_source=lixiaofang&utm_medium=adwords&gclid=Cj0KCQiAvP6ABhCjARIsAH37rbQPYADF-IHXIhL1w4_k3c-OyRBL9d0I3g3482Apj5tn5K1ZbFhSGJQaAguREALw_wcB](https://www.scrip.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjt55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1880295&utm_campaign=8504943975_107931897105&utm_source=lixiaofang&utm_medium=adwords&gclid=Cj0KCQiAvP6ABhCjARIsAH37rbQPYADF-IHXIhL1w4_k3c-OyRBL9d0I3g3482Apj5tn5K1ZbFhSGJQaAguREALw_wcB) . Acesso em: 18 nov. 2020.

FERREIRA, E. M. Eficiência de fungicidas sistêmicos para o controle de *Cylindrocladium candelabrum* em eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 468-475, 2006.

FIGUEIREDO, M.B. Estudo sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. **O Biológico**, v.33, p.9-13, 1967.

FILGUEIRA, F. A. R. **Brassicáceas couves e plantas relacionadas**. FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura. 3 ed^a. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2013. cap. 16, p. 280-299.

FONTES, P. C. R.; NICK, C. **Olericultura: Teoria e prática**. 2^a ed. Viçosa, Editora UFV/DFT, 2019. 247-632 p.

FORCELINI, C. A.; SOUZA, R. T. Frequency of *Alternaria dauci* and *Cercospora carotae* as causal agents of carrot leaf blights in Passo Fundo, RS. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 614-618, 2001.

FRAC. **FRAC Code List, 2016**: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). 2016. Disponível em: <<http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2016.pdf?sfvrsn=2>>. Acesso: 20 nov. 2020.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 1. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

GULLINO, M. L.; TINIVELLA, F.; GARIBALDI, A.; KEMMITT, G.M.; BACCI, L.; SHEPPARD, B. Mancozeb: past, present, and future. **Plant Disease**, v. 94, n. 9, p. 1076-1087, 2010.

HORTIFRUTI. **Agrianual 2019: Anuário estatístico da agricultura brasileira**, São Paulo, p. 292-295, 2019.

HUANG, R.; LEVY, Y. Characterization of iprodione resistant isolates of *Alternaria brassicicola*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 8, p. 828-833, 1995.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário** 2017. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/>>. Acesso em 13/04/2022.

IPA/CEAGESPE/EMATER-PE. **Sistema Integrado de produção de Repolho (*Brassica oleracea* var. capitata) para o Estado de Pernambuco**. Vitória de Santo Antão: IPA, 1997. 41 p (Sistema Integrado de Produção, 5).

ISHII, H. Studies on fungicide resistance in phytopathogenic fungi. **Japanese Journal of Phytopathology**, v. 70, n. 3, p. 149-151, 2004.

KOIKE, S. T.; GLADDERS, P.; PAULUS, A. O. **Vegetable diseases: a color handbook**. San Diego: Academic Press, 2006. 320 p.

LEFSRUD, M.; KOPSELL, D.; WENZEL, A.; SHEEHAN, J. Changes in kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) carotenoid and chlorophyll pigment concentrations during leaf ontogeny. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 112, p. 136-141, 2007.

MA, Z.; FELTS, D.; MICHAILIDES, T. J. Resistance to azoxystrobin in *Alternaria* isolates from pistachio in California. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 77, n. 2, p. 66– 74, 2003.

MAPA. **Agrofit** -sistema de agrotóxicos fitossanitários. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2008. Disponível em:<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 20 Nov. 2020.

MARINGONI, A. C. Doenças das crucíferas (brócolis, couve, couve-chinesa, couve-flor, rabanete, repolho e rúcula). In: KIMATI, H.; AMORIM, L; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed^a. Agronômica Ceres, 2005. Cap. 31, p. 285-291.

MAYNARD, D. N.; HOCHMUTH, G. J. **Knott's Handbook for Vegetable Growers**. 5 ed^a. New Jersey, 2007. 47p. MEHTA, N.; SANGWAN, M. S.; SAHARAM, G. S. Fungal diseases of rapeseed mustard. In: SANGWAN MS; SAHARAM GS, MEHTA N. **Diseases of oilseed crops**. New Delhi: Indus Publishing Company, New Delhi, 2007. p. 15-86.

MONTEIRO, L. F. S.; CUSTÓDIO, M. J. A.; LIMA, A.P.C.; RAMOS, M. H.C. Indutores de resistência para controle de mancha alva na cultura da soja. **Science and Technology Innovation in Agronomy**, v.3, p.115-133. 2019.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. **Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2009.

MOREIRA, H. J. da C.; BRAGANÇA, H.B.N. **Manual de identificação de plantas infestantes: hotifrúti**. São Paulo: FMC, Agricultural Products, 2011.

MOREIRA, M. A.; VIDIGAL, S. M. Evolução das características da planta associadas à nutrição nitrogenada de repolho. **Ceres**, v.58, n.2, p. 243-248, 2015.

MOREIRA, P. A. A. **Diversidade de isolados de *Alternaria brassicicola* (schwn.) wilt. de cultivos convencionais e orgânicos de brássicas de Pernambuco**. 2008, 48 f. Dissertação em fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

NOSSLLALA, S. K. **Sensibilidade in vitro de isolados de *Alternaria grandis* e *Alternaria solani* a fungicidas**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

NOVO, M. C. S. S; PRELA-PANTANO, A.; TRANI, P. E.; BLAT, S. F. Desenvolvimento e produção de genótipos de couve manteiga. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 321-325, 2010.

OLIVEIRA, F. A.; SANTOS, C. A.; COSTA, E. S. P.; GOULART, R. G. T.; ANDRADE, N. F.; DINIZ, C. S.; CARMO, M. G. F. Desempenho de híbridos de couve-flor nas condições da baixada fluminense - RJ. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 30-36, 2018.

OLIVEIRA, S. C.; CASTROAGUDÍN, V. L.; MACIEL, J. L. N.; PEREIRA, D. A. S.; CERESINI, P. C. Resistência cruzada aos fungicidas IQo azoxistrobina e piraclostrobina no patógeno da brusone do trigo *Pyricularia oryzae* no Brasil. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v.41, n.4, p.298-304. 2015.

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

PERIN, A.; CRUVINEL, D. A.; FERREIRA, H. S.; MELO, G. B.; LIMA, L. E.; ANDRADE, J. W. de S. Decomposição da Palhada e Produção de Repolho em Sistema Plantio Direto. **Global Science and Technology**, v. 8, n. 2, p. 153-159, 2015.

PERUCH, L. A. M.; MICHEREFF, S. J. Saprophytic survival of *Alternaria brassicicola* and management of broccoli leaf debris. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 13-18, 2007.

PERUCH, L. A. M.; MICHEREFF, S. J.; ARAÚJO, I. B. Levantamento da intensidade da alternariose e da podridão negra em cultivos orgânicos de brássicas em Pernambuco e Santa Catarina. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 464-469, 2006.

RAJARAMMOHAN, S.; PARITOSH, K.; PENTAL, D; KAUR, J. A genômica comparativa de espécies de *Alternaria* fornece informações sobre o estilo de vida patogênico de *Alternaria brassicae* – um patógeno da família Brassicaceae. **BMC genomics**, 2019 , v. 20, n. 1, pág. 1-13.

REIS, A.; BOITEUX, L. S. *Alternaria* species infecting brassicaceae in the Brazilian

neotropics: geographical distribution, host range and specificity. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 92, p. 661-668, 2010.

REIS, E. M.; REIS, A. C.; CARMONA, M. A. **Manual de fungicidas**: guia para o controle químico de doenças de plantas. 6 ed. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2010.

RIGUEIRA, G. D. J.; BANDEIRA, A. V. M.; CHAGAS, C. G. O.; MILAGRES, R. C. R. M. Atividade antioxidante e teor de fenólicos em couve-manteiga (*brassica oleracea l. var. acephala*) submetida a diferentes sistemas de cultivo e métodos de preparo. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 37, n. 2, p. 3-12, jul./dez. 2016.

RODRIGUES, M. A. T. **Classificação de fungicidas de acordo com o mecanismo de ação proposto pelo FRAC**. 2006. 291 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, 2006.

RODRIGUES, V. J. L. B. et al. Epidemiologia comparativa da alternariose em cultivares de brássicas sob cultivo convencional e orgânico. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 2, p. 226-233, 2004.

ROTEM, J. The genus *Alternaria*: Biology, epidemiology, and pathogenicity. **American Phytopathological Society**, Sant Paul, 1994. 326 p.

SAHARAN, G. N., MEHTA, N., SANGWAN, M. S. (Eds.). **Diseases of oilseed crops**. New Delhi: Indus Publishing, 2005. 643 p.

SCHMITZ, H. K.; MEDEIROS, C. A.; CRAIG, I. R.; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-outside-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 70, n. 3, p. 378-388, 2014.

SILVA, J. M.; CHALCO, F. P. 2017. Coleções didáticas de sementes de hortaliças. Disponível em <<http://repositorioinstitucional.uea.edu.br/handle/riuea/653>>. Acesso em: 17 abr. 2022.

SKYLAKAKIS, G. Mudanças na composição de populações de patógenos causadas por resistência a fungicidas. **Populações de fitopatógenos: sua dinâmica e genética / editado para a Sociedade Britânica de Patologia Vegetal por MS Wolfe e CE Caten**, 1987.

SOUZA, E. P.; BUCCIARELLI, B.; PICCOLI, M. M.; CARDOSO, A. I. I. Molibdênio no tratamento de sementes de brócolis. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, e15711427154, 2022.

STUART, R. M.; BASTIANEL, M.; AZEVEDO, F. A.; MACHADO, M. A. *Alternaria* brown spot. **Citrus Research & Technology**, v. 30, n. 1-2, p. 29-44, 2017.

THE PLANT LIST. **Institute of Biodiversity, Animal Health and Comparative Medicine, College of Medical, Veterinary and Life Sciences**. University of Glasgow. Disponível em: <<https://doi.org/10.15468/btkum2>>. Acesso em 13/04/2022.

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

TOFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J.; FERRARI, J. T. *Alternaria* spp. em oleráceas: sintomas, etiologia, manejo e fungicidas. **O Biológico**, v. 77, n. 1, p. 21-34, 2015.

TRANI, P. E.; TIVELLI, S. W.; BLAT, S. F.; PRELA-PANTANO, A.; TEIXEIRA, E. P.; ARAÚJO, H. S.; FELTRAN, J. C.; PASSOS, F. A.; FIGUEIREDO, G. J. B.; NOVO, M. C. S. S. Couve de folha: do plantio à pós-colheita. IAC – **Boletim Técnico** n. 214, Campinas, 2015.

VERMA, P. R.; SAHARAN, G. S. **Monograph on *Alternaria* diseases of crucifers**. Saskatoon: Minister of Supply and Services Canada, 1994. 162 p.

WARWICK, S. I. Brassicaceae in Agriculture. In: SCHMIDT, R.; BANCROFT, I. (Ed.). **Genetics and Genomics of the Brassicaceae**. New York: Springer New York, 2011. p.33-65.

WILTSHIRE, S. The foundation species of *Alternaria* and *Macrosporium* **Transactions of the British Mycological Society**, 1933, v.18, p.135–IN133.

WISE, K. A.; BRADLEY, C. A.; PASCHE, J. S.; GUDMESTAD, N. C. Resistance to QoI fungicides in *Ascochyta rabiei* from Chickpea in the Northern great plains. **Plant Disease**, v. 93, n. 5, p. 528-536, 2009.

ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, W. S.; OLIVEIRA, S. H. F. Manejo da resistência de fungos a fungicidas. **Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora**, v. 168, 2007.

ZYLA, N.; FIDLER, J.; BABULA-SKOWRONSKA, D. Importancia Economica e Academica de *Brássica oleracea*. **O genoma Brassica oleracea**, 2021, p.1-6.

CAPÍTULO II

Sensibilidad de aislados de *Alternaria brassicicola* a ditiocarbamato, estrobilurina e triazol

**Sensibilidade de isolados de *Alternaria brassicicola* a
ditiocarbamato, estrobilurina e triazol**

Andreza V. S. Silva¹; Ana G. G. Amaral¹; Willie A. S. Vieira¹; Marcos P. S. Camara^{1*}

¹ Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE,
52171-900, Brasil

*Autor para correspondência: Marcos Paz Saraiva Câmara

Email: marcos.camara@ufrpe.br

Resumo

A alternariose causada por *A. brassicicola* é uma das doenças mais comuns e destrutivas nos cultivos de couve e brócolis no Brasil. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a sensibilidade de isolados *in vitro* e *in vivo* de isolados de *A. brassicicola* a ditiocarbamatos, estrobilurinas e triazóis, bem como os componentes de adaptabilidade destes fungicidas. Foram usados 30 isolados de *A. brassicicola* provenientes de áreas produtoras do Brasil. A sensibilidade foi avaliada *in vitro*, a partir da concentração capaz de inibir 50% do crescimento micelial (CE_{50}). Seis isolados foram classificados em sensíveis e seis em não sensíveis para todos os fungicidas. Para o ensaio de sensibilidade *in vivo*, foram utilizadas as doses comerciais recomendadas para a *Alternaria*. O diâmetro da lesão (mm^{-1}) foi determinado no teste *in vivo*, para a análise dos componentes de adaptabilidade. Os isolados selecionados foram comparados quanto ao crescimento micelial, a produção de conídios, a germinação de conídios e a virulência. De modo geral, a maioria dos isolados foram sensíveis aos fungicidas. Para o mancozebe, os valores da CE_{50} variaram de 141,6 a 1961,1 $\mu g.mL^{-1}$, para azoxistrobina variou de 0,9 a 34,2 $\mu g.mL^{-1}$, para difeconazole a variação foi de 3,6 a 17,2 $\mu g.mL^{-1}$. O resultado foi significativo na taxa de crescimento micelial para mancozebe, na produção de conídios e virulência para azoxistrobina. Todos os fungicidas foram eficazes no controle da alternariose, entretanto, a maior eficiência foi obtida com o uso de difeconazole, que apresentou 80,85% de inibição do diâmetro da lesão para isolados sensíveis e 87,14% para isolados não sensíveis. Os resultados indicam a presença de indivíduos sensíveis e não sensíveis nas áreas produtoras, com boas características de adaptabilidade, mostrando a necessidade de adoção de medidas de controle mais eficientes e estratégicas para o monitoramento de populações não sensíveis.

Palavras-chaves: Alternariose, brassicas, *Brassica oleracea*, fungicidas.

Introdução

A família Brassicaceae compreende espécies vegetais de grande importância para a agricultura. Dentre elas se destacam as culturas da couve, couve-flor, repolho e brócolis (*Brassica oleracea* L.) (Novo et al., 2010; Hortifruti, 2019; FAO, 2019).

A produção no mundo das brássicas em 2017 foi de aproximadamente 97,4 milhões de toneladas, sendo China e Índia os maiores produtores mundiais (FAO, 2019). A produção brasileira nesse mesmo período, produziu 82,6 mil toneladas (Hortifruti, 2019). Dentre os maiores produtores de brássicas no Brasil, estão São Paulo com a produção de 467.622 toneladas de repolho, 161.986 t de couve, 140.067 t de couve-flor, seguido por Rio Grande do Sul com 150.017 t de brócolis (IBGE, 2017). Com o aumento da produção destas hortaliças, ocorre o aparecimento de inúmeros fatores que influenciam diretamente na qualidade final do produto. A ocorrência de doenças é um dos principais fatores de preocupação a estas culturas (Novo et al., 2010).

Dentre as principais doenças fúngicas que ocorrem no cultivo de brássicas no Brasil, destaca-se a alternariose causada por espécies do gênero *Alternaria*, sendo as espécies *A. brassicicola* e *A. brassicae* as mais frequentes (Verma; Saharan, 1994). No Brasil, *A. brassicicola* tem sido a espécie predominante em plantios convencionais e orgânicos de brássicas (Peruch; Michereff, 2007). A *A. brassicicola* causa necroses nos cotilédones durante fase de produção de mudas, provocando a de vigor e tombamento (“damping-off”) generalizado de mudas. Em plantas adultas os sintomas são caracterizados por lesões circulares ou ovaladas, com tamanho variável, sendo essas facilmente identificadas pela presença de anéis concêntricos e halos amarelados ao redor das mesmas (Tofoli *et al.*, 2015). As reduções no rendimento da produção são resultantes, principalmente, da diminuição do potencial fotossintético e da aceleração da senescência (Saharan et al., 2005; Verma; Saharan, 1994). As práticas culturais empregadas de forma isolada não são eficientes na redução do inóculo a campo, portanto, o uso de controle químico é necessário para o manejo da alternariose.

A utilização de fungicidas no controle da alternariose é essencial nas condições de cultivo no Brasil, uma vez que previne a infecção e retarda o desenvolvimento dos sintomas, e consequentemente a quantidade de inóculo (Ghini; Kimati, 2000). A aplicação de fungicidas sistêmicos e translaminares, como inibidores de desmetilação (DMIs-difeconazole) e inibidores externos de quinona (QoIs- estrobilurinas), e fungicidas multisítios (por exemplo mancozebe) são recomendados/registrados para o controle alternariose em brássicas, bem como em outras culturas (MAPA, 2008).

Vários fatores podem levar a resultados desfavoráveis quando as doenças de plantas são

manejadas com fungicidas de forma inadequada. O uso frequente de fungicidas com sítios específicos de ação apresentam grande potencial para o desenvolvimento de resistência em populações de fungos, uma vez que pode favorecer a adaptabilidade de isolados menos sensíveis devido (Skylakakis, 1987). Diante disso, parâmetros como a taxa de crescimento micelial, germinação, produção de conídios e virulência, em um hospedeiro suscetível, são usadas para mensurar a adaptabilidade de um organismo (Alexander; Antonovics, 1993). A presença de fungicidas no ambiente de cultivo, pode atuar de forma seletiva, que impulsiona a evolução da resistência, se houver variação na população dos isolados quanto a sensibilidade (Ma; Felts; Michailides, 2003).

Dentre os mecanismos envolvidos na resistência, o principal refere-se as modificações que ocorrem no sítio de ação do produto, reduzindo a afinidade do fungicida. Ainda podem estar associados a rotas metabólicas alternativas ao sítio de ação, na redução da absorção ou no aumento do efluxo do fungicida, a conversão do produto ao ingrediente ativo, a produção da enzima alvo do fungicida e a detoxificação do produto (Ghini; Kimati, 2000). Os mecanismos de resistência podem variar nos diferentes grupos químicos de fungicidas existentes para cada tipo de organismo, ocasionando populações resistentes aos fungicidas (Brent; Hollomon, 2007). Alguns relatos já descrevem a presença de mutações pontuais no gene *cyt b*, nos códons 143 (G143A), 129 (F129L) e 137 (G137R) conferem resistência a fungicidas a base de estrobilurinas (Oliveira et al., 2015). Para o grupo dos triazóis, seis mutações no gene da enzima *cyp51*(citocromo P450 1,4 α -desmetilase), atuando nos códons 120 (F120L), 131 (Y131F/H), 142 (K142R), 145 (I145F) e 475 (I475T) (Schmitz et al., 2014). Ainda não há registros de resistência para mancozebe, por ser um fungicida multisítio e ter ação protetora (Monteiro et al., 2019).

Os fungicidas a base de mancozebe, azoxistrobina e difeconazole são utilizados para controlar a alternariose em outras culturas, porém existem poucas informações da atuação destes fungicidas para as brássicas. Com isto, o presente trabalho foi realizado com o propósito de obter novas informações acerca do controle destes princípios ativos em *A. brassicicola*, além da ocorrência de resistência. Os objetivos do estudo foram: avaliar a sensibilidade in vitro e in vivo de isolados de *Alternaria brassicicola* aos princípios ativos difeconazole, azoxistrobina e mancozebe; e comparar os componentes de adaptabilidade entre os isolados sensíveis e não sensíveis.

Material e métodos

Origem dos Isolados

Trinta isolados previamente identificados morfologicamente como *A. brassicicola* oriundos de lesões foliares de couve e brócolis, foram obtidos da coleção de fungos do Laboratório de Micologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Tabela 1). Esses isolados foram reativados em meio de cultura BDA e logo após discos de micélio do fungo foram retirados e transferidos para placas de Petri. Os isolados foram subcultivados em cultura pura e preservados pelo método de *Castellani* (Castellani, 1939; Figueiredo, 1967), e em sílica gel (Perkins, 2005).

Sensibilidade *in vitro* de isolados de *A. brassicicola* a mancozebe, azoxistrobina e difeconazole

Para determinar a sensibilidade dos isolados de *A. brassicicola*, foram utilizados os seguintes princípios ativos: mancozebe (Manzate 800 WP, 800 g Kg⁻¹ i.a, UPL, Ituverava, SP, Brasil), azoxistrobina (Amistar 500 WG, 500 g kg⁻¹ i.a., Syngenta, São Paulo, SP, Brasil), e difeconazole (Score EC, 250 g l⁻¹ i.a., Syngenta, São Paulo, SP, Brasil). Os fungicidas a base de mancozebe e difeconazole foram dissolvidos em água destilada esterilizada (ADE) para o preparo da solução estoque. O fungicida a base de azoxistrobina foi dissolvida em água e Dimetilsulfóxido (DMSO) a 0,5%, com a adição de ácido salicílico-hidroxâmico (SHAM) a 0,5%. Foram utilizadas as concentrações para mancozebe 0 (controle); 25; 50; 100; 200; 300; 1000; 2000; 3000, para azoxistrobina 0 (controle); 0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1,00; 10; 25 µg.mL⁻¹ e para difeconazole 0 (controle); 0,5; 1,00; 2,5; 5,00; 10; 25; 50 µg.mL⁻¹. O volume de 600 µL do fungicida foi adicionado em 300 mL de meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) fundente (45°C). Os isolados foram repicados para placas de Petri contendo meio de cultura BDA suplementado com fungicida e foram incubados à 25 °C sob alternância luminosa (12 h claro/12 h escuro).

Após 7 dias foi avaliado o crescimento fúngico na placa. O diâmetro das colônias foi mensurado em duas direções perpendiculares, obtendo-se o diâmetro médio da colônia (DMC). Para cada concentração foi calculada a inibição do crescimento micelial da colônia (%ICM) para cada isolado, pela fórmula: $\%ICM = (DMC_{Sf} - DMC_f / DMC_{Sf}) \times 100$, onde, DMC_{Sf} = diâmetro médio das colônias em BDA sem fungicida, DMC_f = diâmetro médio da colônia do isolado obtido em cada concentração. O delineamento experimental consistiu em 3 placas por concentração, e 3 repetições do ensaio de sensibilidade *in vitro* para cada fungicida. Para cada repetição de cada combinação foi feita a regressão linear dos valores do %ICM com o log da concentração do fungicida, para estimar a dose que inibe 50% do crescimento micelial (CE₅₀).

A classificação dos isolados quanto à sensibilidade aos fungicidas foram estabelecidas de acordo com os seguintes intervalos: mancozebe – sensíveis $CE_{50} \leq 500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e não

sensíveis $CE_{50} > 500 \mu\text{g.mL}^{-1}$; azoxistrobina – sensíveis $CE_{50} \leq 10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e não sensíveis $CE_{50} > 10 \mu\text{g.mL}^{-1}$; difeconazole – sensíveis $CE_{50} \leq 5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e não sensíveis $CE_{50} > 5 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Os seis isolados com menores e os maiores valores de CE_{50} para cada princípio ativo foram selecionados e denominados como “sensíveis” e “não sensíveis”, respectivamente, e posteriormente utilizados nos testes de sensibilidade *in vivo* e de adaptabilidade.

Sensibilidade *in vivo* de isolados de *A. brassicicola* a mancozebe, azoxistrobina e difeconazole

Os isolados sensíveis e não sensíveis foram avaliados *in vivo* quanto a sua sensibilidade às doses comerciais de mancozebe ($5 \times 10^3 \mu\text{g.mL}^{-1}$), azoxistrobina ($13 \times 10^2 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e difeconazole ($2 \times 10^2 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Para esse ensaio *in vivo* foram utilizadas plantas de couve com 40 dias de idade, com 15 cm de comprimento e 6 folhas definitivas. Foram utilizados discos contendo estruturas do patógeno obtidos a partir de placas de Petri contendo os isolados do fungo *A. brassicicola*, mantidas a 25°C por 15 dias em meio batata-cenoura-água (Souza e Boava, 2018), utilizado para induzir a esporulação. As plantas de couve foram tratadas com as suspensões dos fungicidas na dose comercial recomendada suplementada com Tween 20 (0,1%), aplicadas com pulverizador manual.

As folhas foram lesionadas com dupla camada de gaze, e discos contendo estruturas do patógeno de 5mm de diâmetro foram posicionados sobre as lesões. As plantas foram colocadas em bandejas plásticas, e mantidos em câmara úmida por 48 h. Após esse período as bandejas com as plantas ficaram em condições de casa de vegetação por 12 dias. O controle negativo consistiu em quatro plantas para cada isolado, pulverizadas com 5 ml de água destilada esterilizada suplementada com Tween 20. Para cada isolado foram utilizadas quatro plantas, em cada planta foram inoculadas 3 folhas. Esse experimento foi repetido duas vezes no tempo.

Para cada fungicida foi calculada o percentual de inibição do diâmetro da lesão (%INIB) para cada nível de sensibilidade (sensíveis e não sensíveis), pela fórmula: $\%INIB = (DL_{Sf} - DL_{Cf} / DL_{Sf}) \times 100$, onde, DL_{Sf} = diâmetro médio da lesão sem fungicida; DL_{Cf} = diâmetro médio da lesão com fungicida.

Avaliação dos Componentes de Adaptabilidade

Os seguintes componentes de adaptabilidade foram estimados e comparados para os isolados de *A. brassicicola* sensíveis e não sensíveis a mancozebe, difeconazole, e azoxistrobina

conforme o teste de sensibilidade *in vitro*: taxa de crescimento micelial, produção de esporos, germinação de conídios e virulência. Para todos os ensaios, os isolados foram cultivados em meio de cultura BDA, mantidos a 25°C, sob alternância luminosa (12 h claro/12 h escuro), por 7 dias (Tabela 2). Para a sensibilidade *in vivo* o delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por uma planta.

Taxa de crescimento micelial

Para o ensaio de taxa de crescimento micelial discos contendo estruturas do patógeno de 5 mm de diâmetro foram retirados das bordas de colônias de *A. brassicicola* com sete dias de crescimento em meio BDA e transferidos para o centro de placas de Petri com meio BDA. O crescimento micelial de cada isolado foi avaliado diariamente, durante sete dias, pela mensuração do diâmetro da colônia e calculada a média por placa. Os valores de crescimento micelial (mm/dia) foram obtidos a partir da razão entre o diâmetro médio da colônia e o número de dias de incubação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa.

Produção de Conídios

Discos contendo estruturas do patógeno de 5 mm de diâmetro foram retirados das bordas de colônias com sete dias de crescimento em meio BDA e transferidos para o centro de placas de Petri com meio BCA, para induzir a esporulação. A produção de conídios foi avaliada após 15 dias de incubação das placas, pela adição de 20 ml de água destilada esterilizada em cada placa. As colônias foram raspadas com pincéis de cerdas macias e filtradas em dupla camada de gaze. A concentração de conídios foi mensurada com a ajuda de um hemacitômetro, que expressa o número de conídios por mililitros da suspensão. Quatro gotas foram contadas para cada placa (réplica). A concentração das suspensões foi ajustada após a contagem para 10^5 conídios. mL⁻¹, a serem utilizadas no ensaio de germinação de conídios.

Germinação dos Conídios

Dez microlitros de suspensão de conídios foram transferidos para quatro pontos equidistantes em placas de Petri contendo 4% de ágar-ágar água. Cada gota foi coberta por uma lamínula e as placas foram incubadas por um período de 12h a 25°C no escuro. Cem conídios foram avaliados em microscópio óptico (Olympus CX22, Tóquio, Japão) para determinar a porcentagem de germinação. Um conídio foi considerado germinado se o tubo germinativo tivesse pelo menos a metade do comprimento do conídio.

Virulência

Os isolados sensíveis e não sensíveis em plantas não tratadas com os fungicidas, foi avaliada aos 14 dias após a inoculação, pelo diâmetro da lesão (em mm) conforme o experimento *in vivo*, sendo posteriormente calculada a média dos diâmetros da lesão por isolado.

Análise de dados

As análises de variância (ANOVA) foram realizadas individualmente para cada componente de adaptabilidade. A normalidade dos resíduos foi determinada usando o teste de Levene, e os dados foram transformados em log (média transformada+1), para atender as pressuposições de normalidade. Os componentes de adaptabilidade entre os diferentes princípios ativos foram determinados pela ANOVA e as médias serão comparadas pelo teste t de Student ($P = 0,05$) usando o software Statistix v.10 (Analytical Software, Tallahassee, FL).

Resultados

Sensibilidade *in vitro* a mancozebe, azoxistrobina e difeconazole.

A resposta de sensibilidade ao mancozebe, azoxistrobina e difeconazole variou entre os isolados de *A. brassicicola*. Os valores de CE_{50} para mancozebe variaram de 0 a 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, em 20 isolados, e 10 isolados foram superiores a 500,01 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, classificados em sensíveis e não sensíveis, respectivamente (Figura 1A).

Para azoxistrobina, 13 isolados apresentaram valores de 0 a 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e 17 isolados apresentaram valores superiores a 10,01 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, classificados em sensíveis e não sensíveis, respectivamente (Figura 1B).

Para difeconazole, 10 isolados apresentaram valores para CE_{50} variando de 0 a 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e 20 isolados apresentaram valores superiores a 10,1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, classificados em sensíveis e não sensíveis, respectivamente (Figura 1C).

Os isolados foram classificados como sensíveis e não sensíveis com base nos valores da CE_{50} , variando a classificação entre os fungicidas para os ensaios subsequentes. Para o mancozebe, os valores da CE_{50} variaram de 141,6 a 1961,1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, para azoxistrobina variou de 0,9 a 34,2 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, para difeconazole a variação foi de 3,6 a 17,2 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Sensibilidade *in vivo* a mancozebe, azoxistrobina e difeconazole.

Houve diferença estatística ($P < 0,05$) no diâmetro da lesão em isolados sensíveis, para mancozebe ($P = 0,03$), azoxistrobina ($P = 0,00$) e difeconazole ($P = 0,00$), e isolados não sensíveis para mancozebe, azoxistrobina e difeconazole, todos apresentando $P < 0,05$.

A eficácia dos fungicidas no controle de *A. brassicicola* foi dependente da sensibilidade dos isolados (Tabela 3). Todas as plantas não tratadas com fungicidas e inoculadas com os isolados sensíveis apresentaram sintomas típicos da Alternariose, com diâmetro médio das lesões variando de 9,56 mm a 14,11 mm. Enquanto as plantas tratadas com fungicida, apresentaram médias variando de 1,83 mm a 9,96 mm (Tabela 3).

Todas as plantas não tratadas com fungicidas, que foram inoculadas com isolados não sensíveis, apresentaram sintomas típicos de *A. brassicicola*, com lesões médias de 13,31 mm (mancozebe), 11,45 mm (azoxistrobina) e 12,99 mm (difeconazole). Para as plantas tratadas com fungicidas houve uma redução do diâmetro da lesão quando comparado as plantas não tratadas com isolados não sensíveis (Tabela 3).

O percentual de inibição variou entre os isolados sensíveis e não sensíveis de *A. brassicicola*. Observa-se diferença entre os fungicidas mancozebe, azoxistrobina e difeconazole. O difeconazole apresentou 80,85% de inibição do diâmetro da lesão para isolados sensíveis e 87,14% para isolados não sensíveis, destacando-se em eficiência no controle da alternariose (Tabela 3).

Análise dos componentes de adaptabilidade

Houve diferença estatística na taxa de crescimento micelial para o princípio ativo mancozebe. Não houve diferença significativa ($P < 0,05$) para a produção de conídios, germinação de conídios e virulência. A taxa de crescimento micelial média para isolados sensíveis foi de $7,55 \text{ mm.dia}^{-1}$, diferindo estatisticamente dos isolados não sensíveis com média de $6,40 \text{ mm.dia}^{-1}$ ($P = 0,00$).

Houve diferença significativa para a azoxistrobina na produção de conídios e na virulência. Não houve diferença significativa ($P < 0,05$) para a taxa de crescimento micelial e germinação. A produção de conídios para os isolados sensíveis foram de $4,31 \times 10^5$ conídios.mL⁻¹ diferindo dos isolados não sensíveis com média de $3,08 \times 10^5$ conídios.mL⁻¹ ($P = 0,02$). Para os isolados sensíveis a virulência foi de $1,44 \text{ mm}^{-1}$ diferindo estatisticamente dos isolados não sensíveis com média de $2,48 \text{ mm}^{-1}$ ($P = 0,00$).

Não houve diferença significativa ($P < 0,05$) para o difeconazole na taxa de crescimento micelial, produção de conídios, germinação de conídios e virulência.

A porcentagem da germinação de conídios foi de 100%, para todos os fungicidas, tanto para os isolados sensíveis como não sensíveis, pois todos os cem conídios germinaram (Figura 2).

Discussão

No geral, os isolados apresentaram maior sensibilidade a mancozebe, seguido por azoxistrobina e difeconazole. Entretanto, os valores elevados de CE_{50} indicam que ocorreu a redução ou a perda de sensibilidade dos isolados de *A. brassicicola*, para mancozebe, azoxistrobina e difeconazole. Rahman *et al.* (2020) observou dados semelhantes para *A. brassicicola* em mostarda, onde os fungicidas mancozebe, azoxistrobina, propiconazol, difeconazole e hexaconazole, inibiram significativamente o crescimento micelial nos estudos *in vitro*, onde os isolados apresentaram alta sensibilidade ao uso de fungicidas.

A resistência aos fungicidas é incomum em populações que não foram submetidas ao tratamento com fungicidas, devido aos alelos associados a resistência serem pouco frequentes (Brent e Hollomon, 2007). Porém, estes alelos aumentam, na mesma medida que a frequência da aplicação de fungicidas. O aumento da eficácia do fungicida, a frequência das aplicações, e a sensibilidade entre indivíduos sensíveis e não sensíveis, são fatores que podem levar a uma alta taxa de pressão de seleção (Vieira *et al.*, 2017). Em nosso trabalho, foi observado uma diferença significativa na sensibilidade dos fungicidas entre os isolados sensíveis e não sensíveis *in vitro* o que pode indicar um aumento na frequência de alelos relacionados a resistência a fungicidas utilizados.

A alta sensibilidade para o mancozebe verificada neste estudo, pode ser decorrente a sua intensiva utilização nas regiões produtoras, alavancando no aparecimento de indícios de resistência. A resistência aos inibidores multisítios ocorre raramente por meio da bomba de efluxo e processo de detoxificação, no entanto, necessita-se de mais estudos para confirmar a presença ou ausência de resistência (Zambolim *et al.*, 2007). O uso de ditiocarbamatos, como o mancozebe, tem sido proposto no controle de diversas espécies de fungos, devido ao seu modo de ação protetor multisítio e baixo risco de resistência (Reis, 2010). Os altos valores de CE_{50} podem estar relacionados ao histórico de uso deste fungicida nas áreas de cultivo (Baldicera *et al.*, 2020).

As azoxistrobinas, inibidores da Quinona oxidase-Qols, são utilizadas amplamente no controle da *A. brassicicola* em brássicas. Por ser um fungicida mesostêmico translaminar e atuar em um único mecanismo de ação bioquímico, pode apresentar maiores riscos de resistência (Tofoli *et al.*, 2015). Essa resistência pode estar relacionada ao uso deste fungicida em campo nas regiões produtoras, pois as aplicações consecutivas podem ocasionar alterações no citocromo b, no códon G143A (Oliveira *et al.*, 2015). Esse resultado é preocupante, pois indica a existência de populações resistentes em campo, tendo em vista que esses isolados possuem características favoráveis a adaptabilidade e disseminação, como a elevada produção

de conídios quando comparado com isolados sensíveis (Zambolim et. al., 2007).

Os isolados tratados com difeconazole, em sua grande maioria apresentaram isolados sensíveis quanto a CE₅₀. Esses fungicidas possuem eficiência comprovada para o controle de doenças causada por *Alternaria* spp., por isso são usados de forma intensiva. Associado a isto, no ensaio *in vitro*, os isolados tratados com este princípio ativo apresentaram vinte isolados não sensíveis, o que indica início de populações resistentes (Sellam et al., 2007; Yang et al., 2019). O difeconazole conseguiu controlar o crescimento micelial, principalmente por causa da redução ou interrupção na disponibilidade de ergosterol na membrana celular na posição C-14, onde é catalisada pelo citocromo P-450 (enzima esterol-C-14 demetilase), no códon *cyp51*, ocasionando o rompimento da membrana e extravasamento de solutos iônicos na célula fúngica provocado pelo difeconazole (Zambolim et al., 2007).

Os resultados *in vivo* revelam a baixa eficiência do mancozebe e alta eficiência para difeconazole seguido por a azoxistrobina, no controle de *A. brassicicola* em plantas de couve. Pesquisas recentes com sensibilidade de *A. brassicicola* a fungicidas, constataram alta eficiência dos fungicidas carbendazim, mancozebe, mancozebe carbendazim, zineb+hexaconazole, oxicleto de cobre, iprodione, etilenobisditiocarbamatos, metalaxil hexaconazole, piraclostrobina, glifosato, tetraconazole+carbendazim, na incidência e severidade da doença, assim como os resultados obtidos neste trabalho (Rahman et al., 2020). O difeconazole apresentou baixa sensibilidade *in vitro*, porém, quando aplicado em campo nas plantas, teve maior eficiência no controle, tanto do crescimento micelial, quanto no diâmetro da lesão a campo. Isso nos mostra a importância de realizar pesquisas relacionadas a sensibilidade em isolados de *A. brassicicola*, e constatar a presença ou ausência de resistência nos cultivos.

Observamos que existem poucos relatos de estudos com esses fungicidas para a inibição do crescimento da alternariose em brássicas. Portanto, informações sobre componentes de adaptabilidade de fungos não sensíveis e sensíveis a fungicidas, nos permite determinar estratégias no manejo da alternariose e impedir o desenvolvimento da resistência. A taxa de crescimento micelial e virulência refletem o potencial patogênico dos isolados. Por outro lado, a produção de conídios e a germinação indicam a capacidade deste patógeno de se reproduzirem e se disseminarem nas áreas de cultivo. Nossos resultados indicam que a evolução da resistência aos fungicidas tem impacto sobre a aptidão física nos isolados não sensíveis e sensíveis de *A. brassicicola*, sendo igualmente capazes de sobreviver e se disseminarem nos cultivos de brássicas, como mostrado na tabela 4, a produção de conídios foi reduzida em isolados tratados com azoxistrobina.

Estes isolados de *A. brassicicola* podem persistir em cultivos de brássicas, mesmo sem a pressão de seleção de múltiplas aplicações de mancozebe, azoxistrobina e difeconazole. A ocorrência de isolados de *A. brassicicola* com baixa sensibilidade a azoxistrobina e difeconazole em regiões produtoras de brássicas é uma realidade. Porém ainda não existem estudos sobre possíveis estratégias de manejo da resistência a serem adotadas nas áreas de cultivos. Como os isolados possuem os mesmos potenciais adaptativos, uma das estratégias seria o uso de fungicidas com modos de ação diferentes a azoxistrobina e difeconazole. A aplicação combinada de fungicidas com diferentes modos de ação, segundo a necessidade do cultivo e com base nas recomendações do fabricante.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao “Conselho Nacional de Pesquisa-CNPq”, pela concessão da bolsa e financiamento da pesquisa. E à Universidade Federal Rural de Pernambuco por todo o apoio técnico e acadêmico.

Referências Bibliográficas

- Alexander, H. M.; Antonovics, J.; Kelly, A. W. Variação genotípica em resistência a doenças de plantas - resistência fisiológica em relação à transmissão de doenças de campo. **Journal of Ecology**, p. 325-333, 1993.
- Baldicera, A. K.; Bogo, A.; Nerbass, F. R.; Becker, W. F.; Casa, R.T; Silva, F. N. Sensibilidade de isolados de *Septoria lycopersi* e eficácia de fungicidas no controle de septoriose no tomateiro. **Revista de Ciencias Agroveterinárias**. 19 (2), 2020.
- Brent, K. J., e Hollomon, D.W. **Resistencia aos fungicidas em patógenos das culturas: Como pode ser gerenciada?**. Comitê de Ação de Resistencia a Fungicidas, Bruxelas. 2007.
- Castellani, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 42, p. 225-226, 1939.
- FAO. **Statistical databases Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Roma, 2019. Disponível em: [https://www.scrip.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjt55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1880295&utm_campaign=8504943975_107931897105&utm_source=lixiaofang&utm_medium=adwords&gclid=Cj0KCQiAvP6ABhCjARIsAH37rbQPYADF-IHXIhL1w4_k3c-OyRBL9doI3g3482Apj5tn5K1ZbFhSGJQaAguREALw_wcB](https://www.scrip.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjt55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1880295&utm_campaign=8504943975_107931897105&utm_source=lixiaofang&utm_medium=adwords&gclid=Cj0KCQiAvP6ABhCjARIsAH37rbQPYADF-IHXIhL1w4_k3c-OyRBL9doI3g3482Apj5tn5K1ZbFhSGJQaAguREALw_wcB). Acesso em: 18 nov. 2020.
- Ferreira, E. M. Eficiência de fungicidas sistêmicos para o controle de *Cylindrocladium candelabrum* em eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 468-475, 2006.

- Ferreira, J. B.; Abreu, M. S.; Pereira, I. S.; Fernandes, K. D.; Pereira, R. B. Sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* (Mancha manteigosa do cafeeiro) a diferentes concentrações de fungicidas. **Ciencia e Agrotecnologia**. Lavras, v.33. p. 2052-2058, 2009.
- Figueiredo, M.B. Estudo sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. **O Biológico**, v.33, p.9-13, 1967.
- Ghini, R.; Kimati, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 1. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.
- Hortifruti. **Agrianual 2019: Anuário estatístico da agricultura brasileira**, São Paulo, p. 292-295, 2019.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário 2017**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/>>. Acesso em 13/04/2022.
- Ma, Z.; Felts, D.; Michailides, T. J. Resistance to azoxystrobin in *Alternaria* isolates from pistachio in California. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 77, n. 2, p. 66– 74, 2003.
- Mapa. **Agrofit -sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2008. Disponível em <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 20 Nov. 2020.
- Monteiro, L. F. S.; Custódio, M. J. A.; Lima, A.P.C.; Ramos, M. H.C. Indutores de resistência para controle de mancha alvo na cultura da soja. **Science and Technology Innovation in Agronomy**, v.3, p.115-133. 2019.
- Novo, M. C. S. S; Prela-Pantano, A.; Trani, P. E.; Blat, S. F. Desenvolvimento e produção de genótipos de couve manteiga. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 321-325, 2010.
- Oliveira, S. C.; Castroagudín, V. L.; Maciel, J. L. N.; Pereira, D. A. S.; Ceresini, P. C. Resistência cruzada aos fungicidas IQo azoxistrobina e piraclostrobina no patógeno da brusone do trigo *Pyricularia oryzae* no Brasil. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v.41, n.4, p.298-304. 2015.
- Perkins, D. How to preserve stocks. Post. McC, DDP revision, 2005.
- Peruch, L. A. M.; Michereff, S. J. Saprophytic survival of *Alternaria brassicicola* and management of broccoli leaf debris. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 13-18, 2007.
- Rahman M. A.,; Zohura, F. T.,; Hamim, I.,; Meah, M. B.,; Hossain, M. A.. 2020. Sensitivity of *Alternaria* blight pathogen (*Alternaria brassicicola*) to fungicides and its effects on yield contributing parameters of mustard. **Fundamental and Applied Agriculture**. doi: 10.5455/faa.120733. 5(3): 435–442. doi: 10.5455/faa.1207332020.
- Rajarammohan, S.; Paritosh, K.; Pental, D; Kaur, J. A genômica comparativa de espécies de

- 405 *Alternaria* fornece informações sobre o estilo de vida patogênico de *Alternaria brassicae* – um
 406 patógeno da família Brassicaceae. **BMC genomics**, 2019 , v. 20, n. 1, pág. 1-13.
- 407 Reis, A.; Boiteux, L. S. *Alternaria* species infecting brassicaceae in the Brazilian neotropics:
 408 geographical distribution, host range and specificity. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 92,
 409 p. 661-668, 2010.
- 410 Reis, E. M.; Reis, A. C.; Carmona, M. A. **Manual de fungicidas: guia para o controle**
 411 **químico de doenças de plantas**. 6 ed. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2010.
- 412 Saharan, G. N., Mehta, N., Sangwan, M. S. (Eds.). **Diseases of oilseed crops**. New Delhi:
 413 Indus Publishing, 2005. 643 p.
- 414 Schmitz, H. K.; Medeiros, C. A.; Craig, I. R.; Stammer, G. Sensitivity of *Phakopsora*
 415 *pachyrhizi* towards quinone-oxidase-inhibitors and demethylation-inhibitors, and
 416 corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 70, n. 3, p. 378-388,
 417 2014.
- 418 Sellam, A.; Iacomini-Valescu, B.; Hudhomme P.; Si-dinheiro P. Atividade antifúngica in vitro
 419 de brassinina, camalexina e dois isotiocianatos contra os patógenos crucíferos *Alternaria*
 420 *brassicicola* e *Alternaria brassicae*. **Plantar Patologia**. 56:296-301. 2007.
- 421 Skylakakis, G. **Mudanças na composição de populações de patógenos causadas por**
 422 **resistência a fungicidas**. Populações de fitopatógenos: sua dinâmica e genética / editado para
 423 a Sociedade Britânica de Patologia Vegetal por MS Wolfe e CE Caten , 1987.
- 424 Souza, A. C.; Boava, L.P. Uso de diferentes tipos de meio de cultura para a esporulação e
 425 crescimento micelial de *Alternaria alternata*. **Revista Científica UNAR**. v 17, n.2, 2018.
- 426 Tofoli, J. G. **Ação de fungicidas e indutores de resistência no controle da requeima e**
 427 **pinta preta na cultura da batata**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- 428 Tofoli, J. G.; Domingues, R. J.; Ferrari, J. T. *Alternaria* spp. em oleráceas: sintomas, etiologia,
 429 manejo e fungicidas. **O Biológico**, v. 77, n. 1, p. 21-34, 2015.
- 430 Verma, P. R.; Saharan, G. S. **Monograph on Alternaria diseases of crucifers**. Saskatoon:
 431 Minister of Supply and Services Canada, 1994. 162 p.
- 432 Vieira, W. A. S.; Lima, W. G.; Nascimento, E. S.; Michereff, S. J.; Reis, A. Thiophanate-
 433 Methyl Resistance and Fitness Components of *Colletotrichum musae* isolates from Banana in
 434 Brazil. **Revista Plant Disease**. 2017.
- 435 Yang, L. N.; He, M. H.; Ouyang, H. B.; Zhu, W.; Pan, Z. C.; Sui, Q. J.; Shang, L. P.;
 436 Zhan, J. Cross-resistance of the pathogenic fungus *Alternaria alternata* to fungicides with
 437 different modes of action. **BMC Microbiology**. 19:1–10. doi: 10.1186/s12866-019- 1574-8.
 438 2019.

- 439 Zambolim, L.; Venâncio, W. S.; Oliveira, S. H. F. **Manejo da resistência de fungos a**
440 **fungicidas**. Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora, v. 168, 2007.

Tabela 1. Isolados de *Alternaria brassicicola* provenientes de área de plantio de brássicas do Brasil, selecionados para os testes de sensibilidade a mancozebe, azoxistrobina e difeconazole.

Código dos Isolados*	Cidade	Estado	Cultura
LM639	Brasília	DF	Couve manteiga
LM 640	Chã Grande	PE	Couve manteiga
LM641	Chã-Grande	PE	Brócolis
LM647	Chã-Grande	PE	Brócolis
LM648	Chã-Grande	PE	Brócolis
LM 649	Chã Grande	PE	Couve manteiga
LM 650	Chã Grande	PE	Couve manteiga
LM661	Chã-Grande	PE	Brócolis
LM664	Chã-Grande	PE	Brócolis
LM665	Chã-Grande	PE	Brócolis
LM667	Chã-Grande	PE	Brócolis
LM 730	Ceilândia	DF	Couve manteiga
LM731	Ceilândia	DF	Couve manteiga
LM732	Ceilândia	DF	Repolho
LM733	Ceilândia	DF	Repolho
LM734	Ceilândia	DF	Couve-flor
LM738	Ceilândia	DF	Brócolis
LM741	Ceilândia	DF	Brócolis
LM742	Ceilândia	DF	Brócolis
LM744	Ceilândia	DF	Brócolis
LM745	Ceilândia	DF	Brócolis
LM748	Brasilândia	DF	Couve manteiga
LM751	Brasilândia	DF	Couve manteiga
LM752	Brasilândia	DF	Couve manteiga
LM755	Brasilândia	DF	Brócolis
LM757	Colombo	PR	Couve manteiga
LM763	Itapetininga	SP	Couve manteiga
LM764	Teresópolis	RJ	Brócolis
LM768	Monte Alegre do Sul	SP	Brócolis
LM797	INCRA	DF	Brócolis

*Código da coleção de Fungos Fitopatogênicos do “Laboratório de Micologia” (LM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife, Pernambuco, Brasil).

Tabela 2. Lista de isolados de *Alternaria brassicicola* provenientes de área de plantio de brássicas do Brasil, selecionados com base nos menores e maiores valores da CE₅₀ para mancozebe, azoxistrobina e difeconazole.

Código dos Isolados*	CE ₅₀ (µg.mL ⁻¹)					
	Mancozebe		Azoxistrobina		Difeconazole	
	S	NS	S	NS	S	NS
LM647	383,3	-	9,4	-	-	5,8
LM664	165,1	-	-	10,2	-	6,4
LM665	-	-	-	-	-	-
LM667	-	525,3	-	18,2	-	5,1
LM734	153,5	-	-	28,6	3,6	-
LM741	206,5	-	6,7	-	-	5,7
LM742	154,8	-	7,7	-	3,8	-
LM744	-	734,7	6,5	-	-	5,2
LM745	-	615,5	-	13,2	5,0	-
LM752	-	574,4	-	16,3	-	-
LM755	-	785,8	-	34,2	-	-
LM757	214,9	-	-	-	4,8	-
LM763	-	-	9,3	-	5,0	-
LM764	-	-	-	-	-	17,2
LM768	-	902,6	-	-	4,4	-

*Código da coleção de Fungos Fitopatogênicos do “Laboratório de Micologia” (LM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife, Pernambuco, Brasil). S: Sensíveis, NS: Não sensíveis.

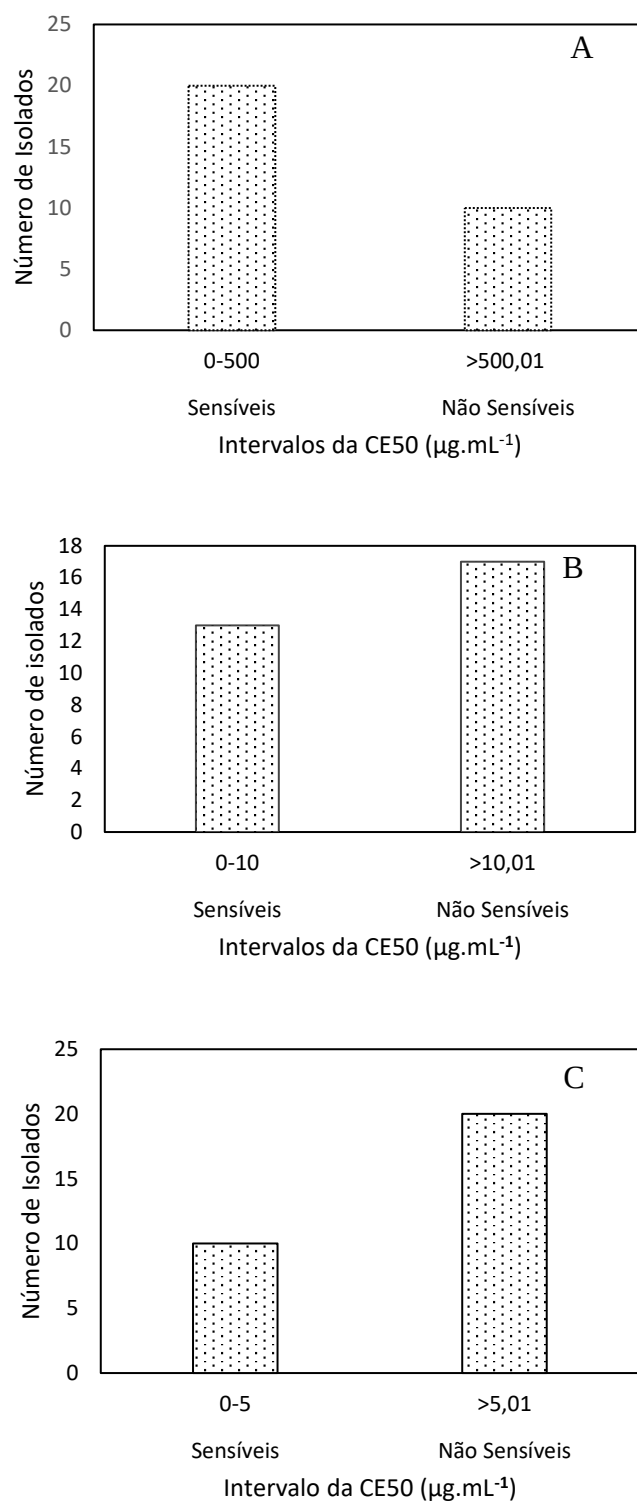


Figura 1. Distribuição de frequência de 12 isolados de *Alternaria brassicicola* com base nos valores da concentração efetiva (CE₅₀) de fungicida capaz de inibir 50% do crescimento micelial (CE₅₀). A- Mancozebe. B- Azoxistrobina. C- Difeconazole.

Tabela 3. Severidade da doença (diâmetro da lesão em mm) em plantas de couve- folha tratadas com a dose comercial de Mancozebe, Azoxistrobina e Difeconazole e inoculadas com isolados sensíveis e não sensíveis de *Alternaria brassicicola*.

Fungicida/nível de sensibilidade	Diâmetro da lesão (mm ⁻¹) *			
	Sem fungicida	Com fungicida	Inibição (%)	P-valor
Mancozebe				
Sensível	13,15 ± 6,71 a	9,96 ± 5,89 b	24,25	0,0398
Não sensível	13,31 ± 4,79 a	7,43 ± 4,11 b	44,17	0,0005
Azoxistrobina				
Sensível	14,11 ± 6,50 a	2,43 ± 2,74 b	82,77	0,0000
Não sensível	11,45 ± 3,61 a	2,94 ± 2,75 b	74,32	0,0000
Difeconazole				
Sensível	9,56 ± 3,88 a	1,83 ± 1,34 b	80,85	0,0000
Não sensível	12,99 ± 4,35 a	1,67 ± 2,26 b	87,14	0,0000

* Médias seguidas da mesma letra na linha para cada fungicida não diferem significativamente pelo teste t-Student (P=0,05). Os valores após ± correspondem aos desvios padrão.

*Médias transformadas em log

Tabela 4. Análise dos Componentes de Adaptabilidade em plantas de Couve Folha entre os isolados de *Alternaria brassicicola* sensíveis e não sensíveis a Mancozebe, Azoxistrobina e Difeconazole.

Fungicida/Nível de Sensibilidade	TCM (mm.dia ⁻¹)	Produção de Conídios (x10 ⁵ conídios.mL ⁻¹)	Germinação (%)	Virulência (mm ⁻¹)
Mancozebe				
Sensível	7,55 ± 0,93 a	3,56 ± 1,60 a	100	10,34 ± 5,64 a
Não sensível	6,40 ± 0,74 b	3,96 ± 1,69 a	100	7,70 ± 4,13 a
<i>P</i> -valor	0,0008	0,5053	-	0,0824
Azoxistrobina				
Sensível	7,36 ± 0,90 a	4,31±1,59 a	100	1,44 ± 0,59 a
Não sensível	6,96 ± 1,12 a	3,08 ± 1,44 b	100	2,48 ± 1,27 b
<i>P</i> -valor	0,2301	0,0235	-	0,0031
Difeconazole				
Sensível	7,20 ±1,26 a	3,26 ± 1,28 a	100	1,75 ± 1,00 a
Não sensível	7,14 ± 0,83 a	4,01 ± 1,79 a	100	1,61 ± 0,71 a
<i>P</i> -valor	0,9702	0,2238	-	0,7262

* Médias seguidas da mesma letra na coluna para cada fungicida não diferem significativamente de acordo com o teste t-Student (P=0,05).

Os valores após ± correspondem aos desvios padrão.

TCM: taxa de crescimento Micelial

*Médias transformadas em log

CAPÍTULO III

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES

1. Os isolados de *Alternaria brassicicola* apresentam diferenças nos níveis de sensibilidade aos princípios ativos mancozebe, azoxistrobina e difeconazole.
2. O princípio ativo difeconazole apresenta maior eficiência (> 85%) no controle da alternariose em couve-flor.
3. Foi detectada a presença de indivíduos sensíveis e não sensíveis nas áreas produtoras, com boas características de adaptabilidade.
4. Os componentes de adaptabilidade apresentaram diferenças significativas entre os isolados sensíveis e não sensíveis.
5. Nenhum dos princípios ativos testados apresentou 100% de eficiência no controle in vivo da alternariose em couve-flor, independentemente do nível de sensibilidade dos isolados.